Aus dem Institut für Pharmakognosie
der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. Rudolf Hänsel

Xanthorrhizol, ein phenolisches Sesquiterpen aus Curcuma xanthorrhiza Roxb.

Inaugural-Dissertation

zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Lutz Kochendoerfer
aus Berlin

1970

Aus dem Institut für Pharmakognosie
der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. Rudolf Hänsel

Xanthorrhizol, ein phenolisches Sesquiterpen aus Curcuma xanthorrhiza Roxb.

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Lutz Kochendoerfer
aus Berlin

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Referent : Professor Dr. R. Hänsel

Korreferent : Professor Dr. G. Schenck

Tag der mündlichen Prüfung: 4. Juni 1970

Tag der Promotion: 9. JULI 1970

Meiner Frau
und meinen Eltern
gewidmet

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546513_0077

Die vorliegende Arbeit wurde am Institut für Pharmakognosie der Freien Universität Berlin auf Anregung und unter der Leitung von Herrn Professor Dr. R. Hänsel durchgeführt.

Es sei mir gestattet, meinem hochverehrten akademischen Lehrer, Herrn Professor Dr. R. Hänsel, für das große Interesse am Fortgang meiner Arbeit, seine wertvollen Ratschläge und seine stete wissenschaftliche Förderung herzlich zu danken.

Meinen besonderen Dank möchte ich Herrn Dr. H. Rimpler, Wissenschaftlicher Rat und Professor am Institut für Pharmakognosie der Freien Universität Berlin, aussprechen für seine wertvollen Anregungen und Anleitungen, insbesondere für seine stete Bereitschaft, über die Probleme dieser Arbeit zu diskutieren.

Herrn Dr. G. Schulz von der Firma Schering AG, Berlin, danke ich für die Aufnahme der Massenspektren, ebenso Herrn Dr. K. Rehse vom Pharmazeutischen Institut der Freien Universität Berlin für die Aufnahme und Diskussion der NMR-Spektren.

Mein besonderer Dank gilt allen Mitarbeitern am Institut für Pharmakognosie, die sich zu jeder Zeit um die Erfüllung meiner Wünsche bemühten, insbesondere Fräulein J. Schulz und Herrn W. Bähr für das Zeichnen und Fotografieren der Formeln und Spektren.

Inhaltsverzeichnis

I. Einleitung und Problemstellung 8

II. Botanik der untersuchten Drogen 10

III. Bisherige Untersuchungen über die Inhaltsstoffe von Curcuma xanthorrhiza Roxb. und Curcuma domestica Val. 18

IV. Wirkung und Anwendung der beiden Curcuma-Arten 21

V. Die Biosynthese der Sesquiterpene 24

VI. Eigene Untersuchungen

A. H a u p t t e i l

1. Isolierung von Xanthorrhizol 30
1.1. Dünnschichtchromatographische Voruntersuchungen der beiden Curcuma-Arten . . . 30
1.2. Isolierung von Xanthorrhizol aus dem Wurzelstock von Curcuma xanthorrhiza Roxb. 31
1.3. Phenolnachweis durch Sprühreagenzien und Farbreaktionen 33

2. Eigenschaften von Xanthorrhizol und ihre Charakterisierung durch analytische Methoden 35
2.1. Eigenschaften von Xanthorrhizol 35
2.2. Strukturaufklärung von Xanthorrhizol . . 35
durch kombinierte Anwendung von UV-, IR-, NMR- und Massenspektroskopie 35
2.3. Einige chemische Methoden zur Strukturaufklärung von Xanthorrhizol 42
2.4. Aufstellung einer vorläufigen Strukturformel für Xanthorrhizol 47

3. Oxydativer Abbau von Xanthorrhizol und Vergleich mit den Abbauprodukten von Carvacrol und Thymol 48

3.1. Oxydation von Thymolmethyläther mit verdünnter Salpetersäure 49
3.2. Oxydation von Carvacrolmethyläther mit verdünnter Salpetersäure 50
3.3. Oxydation von Xanthorrhizolmethyläther mit verdünnter Salpetersäure 50

4. Nachweis des Substitutionsmusters von Xanthorrhizol durch Ringschluß 53

5. Pharmakologische Untersuchung auf choleretische Wirkung von Xanthorrhizol . 58

B. E x p e r i m e n t e l l e r T e i l

Allgemeines

1. Isolierung von Xanthorrhizol 61
1.1. Extraktion der Droge 61
1.2. Wasserdampfdestillation des Methylenchlorid-Extraktes 61
1.3. Trennung des Methylenchlorid-Extraktes über eine Aluminiumoxyd-Säule 62

2. Charakterisierung von Xanthorrhizol . . . 63
2.1. Eigenschaften von Xanthorrhizol 63
2.2. Dünnschichtchromatographie der Methylenchlorid- und Methanol-Extrakte der beiden Curcuma-Arten zum Identitätsnachweis . . 64
2.2.1. Prüfung auf Diferuloylmethanderivate . 64
2.2.2. Prüfung der Methanol- und Methylenchlorid-Extrakte auf Anwesenheit von Xanthorrhizol 66
2.3. Darstellung und Eigenschaften von Derivaten der Verbindung Xanthorrhizol. . 68
2.3.1. Methylierung von Xanthorrhizol 68
2.3.1.1. mit Diazomethan 68
2.3.1.2. mit Dimethylsulfat 69
2.3.2. Benzoylierung von Xanthorrhizol . . . 70
2.3.3. Quantitative Hydrierung von Xanthorrhizol 73

2.3.4. Hydrierung von Xanthorrhizolmethyläther 74
2.4. Oxydativer Abbau von Xanthorrhizol und Darstellung der Abbauprodukte von Carvacrol und Thymol 74
2.4.1. Methylierung von Carvacrol 74
2.4.2. Methylierung von Thymol 76
2.4.3. Oxydation von Carvacrolmethyläther mit verdünnter Salpetersäure 77
2.4.4. Oxydation von Thymolmethyläther mit verdünnter Salpetersäure 80
2.4.5. Chromatographie der Vergleichssubstanzen 81
2.4.6. Oxydation von Xanthorrhizolmethyläther mit verdünnter Salpetersäure . . 81
2.5. Cyclisierung von Xanthorrhizol 83

V. Diskussion 85

VI. Zusammenfassung 87

VII. Literaturverzeichnis 88

VIII. Lebenslauf

I. Einleitung und Problemstellung

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit dem Wurzelstock von Curcuma xanthorrhiza Roxb., einer Droge, die erst in neuerer Zeit wieder in die Therapie eingeführt wurde, aber bereits seit Jahrhunderten bei den Eingeborenen der Sunda-Inseln unter dem Namen Temoe Lawak als Heilmittel bei Krankheiten der Leber und Galle gebraucht wird. Sie pressen den Saft der Wurzel aus und trinken ihn mit Wasser vermischt (Kalk u. Nissen, 1931). Die Droge stellt ein typisches Beispiel für ein Signaturheilmittel dar, denn die charakteristische gelbe Farbe der Droge hat wahrscheinlich sofort die Aufmerksamkeit auf sich gezogen und die Vermutung einer heilenden Wirkung bei Leberleiden hervorgerufen (Meijer u. Koolhaas, 1939). Die Anwendung der Pflanze hat dies bestätigt, und die galletreibende Wirkung wurde durch pharmakologische Untersuchungen festgestellt.
Neben Curcuma xanthorrhiza Roxb. wird auf Java noch eine andere Curcuma-Art unter dem Namen Koenir oder Koenjit gehandelt, die sogenannte Gelbwurz, Curcuma domestica Val. Sie besitzt eine bedeutend schwächere choleretische Wirkung als die Temoe-Lawak-Pflanze und wird deshalb nur noch zum Färben von Lebensmitteln wie Käse und Speisesenf (Steinegger u. Hänsel, 1968) verwendet. Daneben ist sie ein wichtiger Bestandteil des Gewürzes Curry (Burger, 1958).

Beide Drogen sind wegen ihres ähnlichen Aussehens in der Vergangenheit vielfach miteinander verwechselt worden, wodurch eine beträchtliche Verwirrung betreffs der Stammpflanze und der in den Drogen enthaltenen Inhaltsstoffe entstanden ist (Gunster, 1943; Hegnauer, 1963). Über die wirksamen Prinzipien der Temoe-Lawak-Droge bestehen sehr widersprüchliche Meinungen. Neben den in der Droge enthaltenen Farbstoffen wurden sowohl der Gesamtextrakt als auch das ätherische Öl als Träger der galletreibenden Wirkung angesehen. Bei zwei als wirksam angesehenen Inhaltsstoffen des ätherischen Öls, dem p-Tolylmethylcar-

binol und dem 1-Cycloisoprenmyrcen, handelt es sich höchstwahrscheinlich nur um Artefakte, die erst bei der Aufarbeitung des Öls entstanden sind, so daß das eigentliche Wirkungsprinzip weiterhin unbekannt ist.
Die Auffindung einer bisher unbekannten Verbindung im ätherischen Öl von Curcuma xanthorrhiza Roxb. veranlaßt uns, die Frage nach dem Wirkungsprinzip der Droge erneut aufzugreifen.
Aufgabe dieser Arbeit ist es, diese zunächst mit den Methoden der Dünnschichtchromatographie nachgewiesene Verbindung zu isolieren und ihre chemische Konstitution aufzuklären. Daneben war zu untersuchen, ob die von uns entdeckte Verbindung auch in Curcuma domestica Val. nachzuweisen war und damit eine weitere Möglichkeit zur Unterscheidung beider Drogen bestand.

II. Botanik der untersuchten Drogen

Die untersuchten Curcuma-Rhizome gehören zur Familie der Zingiberaceae (Ordnung Scitamineae). Die Familie umfaßt etwa 1400 Arten und 47 Genera. Die botanische Einordnung und systematische Bearbeitung dieser beiden Curcuma-Drogen ist erschwert durch die Vielzahl kultigener Sippen, die sich aus der Selektion bestimmter Arten zur Verwendung als Arzneimittel und Gewürz ergeben haben (Holtum, 1951).
Man unterscheidet nach Loesener (1930) bei den Zingiberaceae 2 Unterfamilien
a) Zingiberoideae und b) Costoideae
und unterteilt die Zingiberoideae in 3 Tribus
1. Globbeae, 2. Hedychieae und 3. Zingibereae.

Zur Tribus Hedychieae gehören neben weiteren 16 Genera die Curcuma-Arten.

Die Zingiberaceae sind beheimatet in den Wäldern der Tropen der Alten und Neuen Welt. Sie bilden perennierende, krautige Pflanzen von zum Teil gewaltigem Ausmaß mit ganzrandigen, vom Stiel deutlich abgesetzten, großen Blättern mit kräftigem Mittelnerv und ausgeprägtem Kiel. Die Blätter befinden sich in Blattscheiden mit einem Blatthäutchen (Ligula). Die Blüten sind zygomorph und durch eine besonders auffallende Rückbildung der Staubblätter gekennzeichnet. Nur das hintere Staubblatt des inneren Kreises ist fruchtbar, die beiden anderen seitlichen Staubblätter sind kronblattartig umgestaltet zu einer eigenartigen Lippe (Labellum). Die Staubblätter des äußeren Kreises können als Staminodien auftreten, an der Bildung der Lippe beteiligt sein oder ganz fehlen. Das Perianth ist in Kelch und Krone gegliedert. Der dreiblättrige Fruchtknoten ist immer unterständig mit vielen Samenanlagen. Die Früchte bilden meist Kapseln. Der Samen besitzt einen Arillus und besteht aus einem mehligen Perisperm und einem eiweißhaltigen Endosperm. Die Rhizome und Wurzeln sind bei vielen Vertretern der Zingiberaceae

knollig verdickt. Sehr verbreitet sind Exkretzellen in Form von sogenannten Harz- oder Ölzellen. Diese besitzen nur schwach verkorkte Membranen und enthalten ein Gemisch aus wasserdampfflüchtigen Stoffen (ätherische Öle) und nicht-flüchtigen Verbindungen wie Harze, Farbstoffe und Scharfstoffe (Hegnauer, 1963).

1.) Curcuma xanthorrhiza Roxbourgh

Deutsch: Javanische Gelbwurz
Malaiisch: Tamu oder temu lawak (lawas)
Holländisch: Temoe Lawak
Javaansche Curcumawortel

Der Name Curcuma stammt vom arabischen Ausdruck Kurkum = gelb, das wohl auch zur Bezeichnung Crocus für Safran geführt hat. Xanthos bedeutet griechisch gelb und rhiza die Wurzel. Die Droge wird seit dem Altertum in China und Indonesien kultiviert. Beschrieben wurde ihre Verwendung in Indonesien bereits im Jahre 1563 durch den Portugiesen Garcia ab Orta, während der holländische Arzt Bontius (1592-1631) in Batavia einen ausführlichen Bericht über Crocus indicus (Curcuma) verfaßte und unter anderem auch die Anwendung bei Gelbsucht erwähnte. Er hatte bereits eine richtige Vorstellung von der Wirkung der Droge, die in der Abscheidung von Galle besteht.
Auch in Deutschland war die Curcuma bereits im Mittelalter bekannt (Isaac, 1959). So schreibt Tabernaemontus in seinem "Neuw vollkommentlich Kreuterbuch" (1625):
"Es ist diese Wurzel gar wenig im Gebrauch. Es wird aber eine Lattwerge in den Apotheken zugerichtet - Diacurcuma genennet - so zu vielen Schwachheiten gut ist - als nemlich zu den kalten Schwachheiten des Magens - der Leber und deß Miltzes und derselben langwirigen Gebrechen. Gilbwurzel wird auch genannt Gelsuchtwurtzel - dieweil sie zu der Gelsucht gut soll seyn."
Ähnliches berichtet auch Adamus Lonicerus in seinem Kräuterbuch (1679). Die Beliebtheit der Curcuma stieg zeitweise so stark an, daß sie als Allheilmittel ver-

wendet wurde. Eine historische Übersicht über den Gebrauch der Droge zu den verschiedenen Zeiten gibt Stirnadel (1931). In der Folgezeit geriet die Droge jedoch mehr und mehr in Vergessenheit. Sie wurde zwar im holländischen Arzneibuch von 1905 an erwähnt, doch war ihre Bedeutung zu dieser Zeit schon erheblich gesunken. So stellt 1925 Tschirch fest, daß Curcuma als Arzneimittel keine Rolle mehr spiele.

Neues Interesse an der Curcuma als Heilmittel erweckten Koch und Guttenberg. Während Koch (1927) bei seinen Versuchen einen Aufguß von Temoe Lawak verwandte, sah Guttenberg (1926) bereits im ätherischen Öl den eigentlichen Träger der Wirksamkeit.
Curcuma xanthorrhiza Roxb. findet sich in keinem der bisherigen 7 deutschen Arzneibücher, ist jedoch aufgenommen in das DAB VII Ost und in der Pharmakopeé Francaise VIII.

Die richtige botanische Einordnung der Stammpflanze von Temoe Lawak hat lange Zeit große Schwierigkeiten bereitet, da sich die etwa 40 bestehenden Curcuma-Arten in ihrem Aussehen stark ähneln und unter dem Namen selbst von der inländischen Bevölkerung Javas offenbar drei verschiedene Arten angeboten wurden (Gunster, 1943). Diese Verwirrung besteht auch heute zum Teil noch in der Literatur, obwohl ausgedehnte Nachforschungen und Kulturversuche den Nachweis erbrachten, daß allein Curcuma xanthorrhiza Roxb. die echte Temoe-Lawak-Pflanze darstellt.
Die älteren Autoren (Wiggers 1847, Zörnig 1911, Thoms 1929) geben als Stammpflanze Curcuma Zerumbet Roxbourgh an. Einige andere Autoren bezeichnen sie mit Curcuma longa L. (Guttenberg 1929, Engler-Prantl 1889).
Sehr verbreitet war auch die Ansicht, daß als Stammpflanze Curcuma domestica Valeton angenommen werden müsse (Dieterle u. Kaiser 1932, Grabe 1934, Peyer u. Hünerbein 1932, Holländisches Arzneibuch 4. Ausgabe 1926).
Nach Neubauer (1954) wird auf Java von der inländischen Bevölkerung Curcuma domestica Val. (Temu kunir genannt) hauptsächlich als Gewürz verwendet, während für medizinische Zwecke ausschließlich Curcuma xanthorrhiza Roxb.

benutzt wird.
Davidis und Zaajer (1938) fassen diese beiden Pflanzen als Varietäten der Curcuma longa L. auf, und zwar Curcuma xanth. Roxb. als Curcuma longa L. var. major und Curcuma domestica Val. als Curcuma longa L. var. minor.
Gunster (1943) schließlich gibt an, daß die inländische Bevölkerung Javas selbst die verschiedenen Curcuma-Arten verwechselt, da unter dem Namen Temoe Lawak wenigstens drei Arten im Handel erhältlich waren, nämlich Curcuma domestica Val., Curcuma colorata Val. und Curcuma xanthorrhiza Roxb. Bereits Meijer u. Koolhaas (1939) sind aber der Ansicht, daß als Stammpflanze von Temoe Lawak Curcuma domestic Val. bestimmt unrichtig ist und geben Curcuma xanthorrhiza Roxb. als einzig richtige an. Diese Meinung findet sich auch bei van Zijp (1917), bei van Griffen (1941), bei Jentzsch (1954) und wird in der neuen Literatur heute allgemein vertreten (Hegnauer 1963, Berger 1960).
Mit größter Wahrscheinlichkeit stammt die aus Indonesien heute nach Europa exportierte Temoe-Lawak-Droge von Curcuma xanthorrhiza Roxb. ab, da man sich bereits zur Zeit der holländischen Besetzung bemühte, eine einheitliche und qualitativ hochstehende Pflanze in Kulturen zu ziehen (Davidis u. Zaayer 1939).

Curcuma xanthorrhiza Roxb. ist eine krautige, bis 1 m hohe, ausdauernde Staude, mit einem dicken, knolligen Wurzelstock, aus dem zahlreiche, teilweise an den Enden verdickte Wurzeln und rundliche Nebenwurzeln herauswachsen. Die Haupt- und Nebenrhizome besitzen Niederblätter. Die Nebenrhizome bilden im Lauf der Entwicklung knollige Anschwellungen, die wieder Wurzeln tragen. Aus ihnen entsteht nach Absterben des Hauptrhizoms eine selbständige Tochterpflanze.
Die kurzen Sproßachsen besitzen am Fuß Niederblätter, die darüber von etwa 1 m langen, ganzrandigen, dünnen Blättern mit lanzettlicher Blattspreite abgelöst werden. Die Blätter befinden sich in Blattspreiten.

Die Blüte bildet eine dichte, zapfenförmige, endständige Ähre und steht in kurzen Wickeln in den Achseln großer, grünlich-weißer Deckblätter. Die gelben Einzelblüten bestehen aus einer trichterförmig verwachsenen, dreizipfligen Krone und einem röhrenförmigen, dreilappigen Kelch. Von den Staubblättern ist nur das mediane des inneren Kreises fruchtbar. Zusammen mit den kronblattartig ausgebildeten seitlichen Staminodien bildet sein Staubfaden ein Labellum. Die Frucht ist eine Kapsel, die bis zur Reife von Deckblättern umgeben ist.
Curcuma xanthorrhiza Roxb. war ursprünglich in den Wäldern des tropischen Südostasiens beheimatet. Heute kommt sie dort nur noch selten vor. Als Arzneipflanze wird sie in großen Kulturen in Indonesien, Südchina und Vorderindien gezogen. Der Hauptlieferant ist Java, wo man sich auch zuerst bemühte, eine einheitliche und qualitativ hochwertige Droge zu exportieren (Berger 1960, Gildemeister u. Hoffmann 1956, Gunster 1943).
Die Gewinnung der Droge erfolgt durch vegetative Vermehrung der Hauptknollen des Rhizoms, nicht aber der sogenannten Finger und der Nebenwurzelknollen (Hegnauer 1963), da die Knospen der Hauptrhizome besser austreiben. Dazu werden diese in Stücke geschnitten und in Abständen von 60 x 60 cm im April und Mai eingegraben. Da Curcuma xanthorrhiza Roxb. eine Schattenpflanze ist, wird als Schutz häufig der Baum Albizzia falcata (Stickm.) Backer mit in der Kultur angebaut.
Nach der zweiten Vegetationsperiode erfolgt die Ernte der knollenförmig verdickten Hauptrhizome, die allgemein die officinelle Droge liefern. Nach dem Ausgraben werden die Rhizome sofort sorgfältig gewaschen und die kleineren Nebenwurzeln entfernt, die in Java zur Herstellung einer schmackhaften Kindernahrung dienen (Berger 1960). Die Rhizome werden häufig geschält, aber nicht wie bei Curcuma longa L. gebrüht, sondern in Scheiben von 30-50 mm Durchmesser geschnitten und bei mäßiger Wärme (50-55°) getrocknet (Gunster 1943).

Der Wurzelstock von Curcuma xanthorrhiza Roxb. ist bei frisch durchschnittener Droge hellgelb bis gelbbraun und hat einen Durchmesser von etwa 50 mm. Der Querbruch ist glatt und läßt oft in der Mitte des Querschnitts zahlreiche dunkle Flecke erkennen, über die nichts bekannt ist. Die Epidermiszellen haben verdickte, leicht vorgewölbte Wände, mit Resten dickwandiger, einzelliger und lang zugespitzter Haare.
Die Korkschicht besteht aus etwa 10 braungelben, dünnwandigen Zellen. Im Rindenparenchym finden sich flache, ovale Stärkekörner von etwa 10 mm Breite und 15 mm Länge. Daneben lassen sich verstreut liegende Zellen mit gelblich-braunem Inhalt erkennen. Über den Querschnitt verstreut sind Leitbündel vorhanden.
Der Geschmack der Droge ist bitter und scharf, der Geruch aromatisch.

2.) Curcuma domestica Valeton

Früher allgemein Curcuma longa L.

Deutsch:	Gelbwurz, Gilbwurz, Gelbsuchtwurzel, Gurkumei, Tumerikwurzel
Englisch:	Long rooted Curcuma, Tumeric Root, Curcuma Root
Französisch:	Racine de Curcuma
Malaiisch:	Koenir oder Keonjit

Die Gelbwurz wird in Indien seit dem Altertum kultiviert, wo sie ein Ersatz für Crocus gewesen zu sein scheint. Sowohl bei den Hindus wie später bei den Mohammedanern war die Droge ein insbesondere äußerlich angewendetes Arzneimittel.
Curcuma domestica Val. ist wahrscheinlich identisch mit dem bereits bei Dioskurides etwa 50 n.Chr. erwähnten Crocus indicus und dem bei Plinius (23-79 n.Chr.) beschriebenen Cyperus. Der arabische Arzt Ibn Sina, genannt Avicienna (980-1037), beschreibt sie als eine indische Wurzel, die in ihren färbenden Eigenschaften dem Safran gleicht. In größerem Umfang scheint die Droge aber

weder bei den Arabern noch im späteren Mittelalter angewendet worden sein (Luckner, 1967).
Unter der Bezeichnung Cyperus indicus erscheint die Gelbwurz in einigen spätmittelalterlichen Drogenverzeichnissen, z.B. in der Frankfurter Liste von 1450 und im Frankfurter Catalogus von 1582. Die bisherigen 7 deutschen Arzneibücher enthalten keine Monographie über die Gelbwurz. Die Droge wurde jedoch in das Erg.-Buch 6 aufgenommen und findet sich unter der Bezeichnung Rhizoma Curcumae longae im DAB VII Ost.
Wie bei Curcuma xanthorrhiza Roxb., so war auch bei Curcuma domestica Val. die richtige botanische Einordnung der Stammpflanze in der Literatur lange umstritten, und es hat zahlreiche Verwechslungen gegeben.
Einerseits wurden Curcuma domestica Val. und Curcuma longa L. als verschiedene Arten beschrieben (Peyer u. Hünerbein 1932), andererseits wird Curcuma domestica Val. mit Curcuma xanthorrhiza Roxb. verwechselt (siehe dort).
In vielen Pharmakopoeen (Erg.-B. 6; Pharm.Belg. IV; Svensk.Farm.XI, 1946; Pharm.Gall.VII, 1949; USP XIV; Brit.Pharm. 1953) war die Stammpflanze der Gelbwurz mit Curcuma longa L. angegeben worden (Jentzsch u. Sackl, 1954). Diese Bezeichnung findet sich auch heute noch im DAB VII Ost und teilweise in der modernen Literatur (Gildemeister u. Hoffmann, 1956; Steinegger u. Hänsel, 1968), während Guenther (1952) einerseits das ätherische Öl von Curcuma longa L. für sich allein und das ätherische Öl von Curcuma domestica Val. und Curcuma xanthorrhiza Roxb. gemeinsam behandelt. Meijer u. Koolhaas (1939) dagegen geben bereits an, daß nur Curcuma domestica Val. die Stammpflanze der Gelbwurz sei.
Eine genaue Beschreibung der Entwicklung der botanischen Einordnung der Gelbwurz geben Jentzsch u. Sackl (1954); dort finden sich auch die entsprechenden Literaturangaben. Danach fügte bereits Linné (1762) selbst der von ihm ursprünglich als Curcuma longa L. bezeichneten Pflanze zwei weitere Synonyma hinzu: Curcuma domestica Rumph.

und Curcuma rotunda, so daß keine einheitliche Species vorliegen konnte. Unter der Bezeichnung Curcuma longa Koenig wurde die Curcuma domestica Rumph. ausführlich von König beschrieben (1783), später auch von Loureiro (1790). Die Curcuma longa der Autoren Schumann und Roxbourgh dagegen konnte auf Grund abweichender Beschreibungen nicht die Pflanze von Linné oder König sein. Im Jahre 1918 befaßte sich zuletzt Valeton, der als Spezialist für Zingiberaceen am Botanischen Museum in Buitenzorg arbeitete, mit der Pflanze. Er stellte fest, daß Curcuma longa L. und Curcuma aromatica Salisbury (Curcuma zedoaria Roxb.) identisch sind und gab der Pflanze bei seiner genauen Beschreibung den Namen Curcuma domestica Valeton. Unter dieser Bezeichnung wurde sie in den international anerkannten Index Kewensis 1926 aufgenommen. Jentzsch und Sackl schließen sich dieser Auffassung an, ebenso Hegnauer (1963) und Berger (1960), wobei letzterer die Stammpflanze allerdings mit Curcuma domestica Lour. angibt.

Curcuma domestica Val. ist eine ausdauernde, krautige Pflanze, die in ihrer äußeren Erscheinung weitgehend der Beschreibung von Curcuma xanthorrhiza Roxb. entspricht, so daß auf diese verwiesen wird.

Die Gelbwurz ist über ganz Südostasien verbreitet, kommt jedoch heute kaum noch wild vor, sondern wird in vielen tropischen Gebieten, so im Hinter- und Vorderindien, Südchina, auf Ceylon, Java, Formosa, den Philippinen, in Westindien und in Afrika in großen Kulturen angebaut (Berger, 1960 ; Claus, 1965; Gildemeister u. Hoffmann, 1956).

Auch Curcuma domestica Val. wird ausschließlich vegetativ vermehrt. Von April bis Mai werden die Rhizomteile ausgepflanzt. Die Jungpflanzen werden später behäufelt. Um die Entwicklung der unterirdischen Organe zu fördern, werden die Blütenstände entfernt. Am Ende der Vegetationsperiode erfolgt die Ernte der Rhizome. Diese werden ausgegraben, von Wurzeln, Blattresten und anhaftender Erde befreit und etwa 1 Stunde lang gekocht oder mit heißem

Wasser gebrüht. Dabei verkleistert die in der Droge reichlich vorhandene Stärke, und der gelbe Farbstoff tritt aus den Sekretzellen aus. Die Droge wird danach meist auf Matten ausgebreitet und an der Sonne getrocknet. Die knolligen Hauptrhizome, die bevorzugt zur vegetativen Vermehrung benutzt werden, bilden die seltenere Handelssorte "Curcuma rotunda", die fingerförmigen Nebenrhizome die Handelssorte "Curcuma longa", die sich in ihren Inhaltsstoffen jedoch nicht unterscheiden.
Die Droge besteht aus 2 bis 5 cm langen und etwa 2 cm dicken Wurzelstöcken, die quergeringelt sind mit hartem, hornartigem Bruch. Die Farbe ist gelb bis gelbbraun. Ihr anatomischer Aufbau gleicht dem von Curcuma xanth. Roxb.

III. Bisherige Untersuchungen über die Inhaltsstoffe von Curcuma xanthorrhiza Roxb. und Curcuma domestica Val.

1.) Curcuma xanthorrhiza Roxb.

Fast gleichzeitig mit der Wiederentdeckung der Droge erschienen die ersten Arbeiten, die sich mit der Auffindung und Konstitutionsklärung der Inhaltsstoffe befaßten. Das bei der Wasserdampfdestillation der Droge entstehende, schwach gelblich gefärbte ätherische Öl wurde zuerst von Dieterle u. Kaiser (1932/1933) untersucht. Sie trennten das ätherische Öl durch fraktionierte Vakuumdestillation in mehrere Komponenten, wobei sie als niedrig siedenden Hauptbestandteil (85%) ein Sesquiterpen, das 1-Cycloisoprenmyrcen $C_{15}H_{24}$, angeben. Durch anschließende Destillation im Hochvakuum wurde von ihnen weiterhin ein aromatischer Alkohol, das p-Tolylmethylcarbinol $C_9 H_{12}O$, isoliert, daneben 1% Campher. Höchstwahrscheinlich handelt es sich bei den ersten beiden Verbindungen jedoch nicht um genuine Ölbestandteile, sondern um Artefakte, die erst bei der Aufarbeitung durch die Vakuumdestillation entstehen. Nach Hegnauer (1963) ist das ätherische Öl ziemlich unbeständig und verharzt bei längerem Lagern der Droge. Bei der Wasserdampfdestillation und vor allem beim Fraktionieren bei höheren Temperaturen tritt teilweise Zersetzung auf.

Nach Gunster (1943) handelt es sich bei p-Tolylmethylcarbinol möglicherweise um ein Abbauprodukt der C_{15}-Ketone. Diese Verbindung konnte auch von Luckner (1967) mit der von ihm entwickelten dünnschichtchromatographischen Methode nicht mehr nachgewiesen werden.

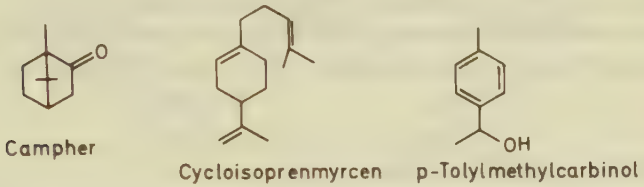
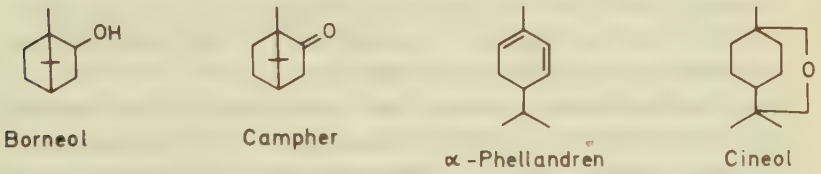


Abb. 1
Ölbestandteile von Temoe Lawak nach Dieterle und Kaiser (1932/1933)

Nach den umfassenden Untersuchungen von Gunster (1943) enthalten die getrockneten Rhizoma von Curcuma xanthorrhiza Roxb. ein ätherisches Öl mit α-Phellandren, Campher, Borneol, Cineol (zusammen etwa 10%), Zingiberen (etwa 30%) und ferner einer Mischung von Sesquiterpenketonen (Turmerone und Atlantone) und wahrscheinlich Zingiberol.



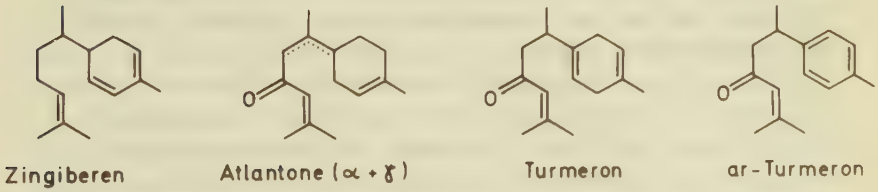
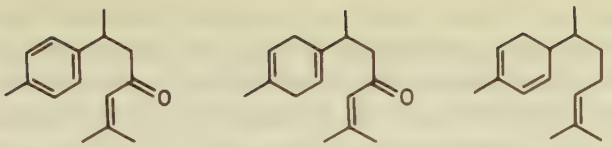


Abb. 2
Ölbestandteile von Temoe Lawak nach Gunster (1943)

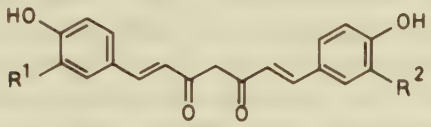
Neben 5 bis 9 % ätherischem Öl enthält Temoe Lawak 30 bis 40 % Stärke, fettes Öl, Gummi und Calciumoxalat. Als wichtigste Bestandteile des in der Droge enthaltenen Gemisches gelber Farbstoffe wurden Diferuloylmethan (Curcumin) und p-Hydroxycinnamoylmethan identifiziert (Jentzsch, Gonda u. Höller, 1959). Der Gehalt an Diferuloylmethanderivaten, berechnet als Curcumin und auf die wasserfreie Droge, beträgt 1,20 - 2,oo % (Luckner, 1967).

2.) Curcuma domestica Val.

Das bei der Wasserdampfdestillation von Curcuma domestica Val. entstehende orangegelbe, bisweilen fluoreszierende ätherische Öl ist in Mengen von 3 bis 5 % (Berger, 1960), nach Gunster (1943) zu 5,6 bis 12 %, nach Gildemeister u. Hoffmann (1956) zu 1,3 bis 5,5 % vorhanden.
Es wurde zuerst von Jackson u. Mencke (1882) untersucht. Sie fanden darin das alizyklische Sesquiterpen Turmeron (etwa 50 %), das aromatische Keton ar-Turmeron (etwa 40%) und Sesquiterpenalkohole. Neuere Forschungen ergaben etwa 65 % ketonische Sesquiterpene, z.B. Turmeron und ar-Turmeron (Pfau, 1932; Rupe, 1934), etwa 25 % Zingiberen (Kelkar, 1934) und in geringeren Mengen d-α-Phellandren (1 %), d-Sabinen (0,6 %), Borneol (0,5 %) und Cineol (1 %) (Gildemeister u. Hoffmann, 1956).
Als Hauptbestandteil des in der Droge enthaltenen Gemisches gelber Farbstoffe isolierte Srinavasan (1953) Diferuloylmethan (Curcumin) (60 %), p-Hydroxycinnamoylferuloylmethan (24 %) und p,p'-Dihydroxydicinnamoylmethan (14 %). Der Gehalt an Diferuloylmethanderivaten, berechnet als Curcumin und auf die wasserfreie Droge, beträgt 3,20 bis 4,00 % (Luckner, 1967).



ar.-Turmeron Turmeron Zingiberen



$R^1 = R^2 = OCH_3$: Diferuloylmethan

$R^1 = R^2 = H$: p.p'-Dihydroxydicinnamoylmethan

$R^1 = H$; $R^2 = OCH_3$: p-Hydroxycinnamoylferuloylmethan

Abb. 3
Ölbestandteile von Curcuma domestica Val.

IV. Wirkung und Anwendung der beiden Curcuma-Arten

1.) Curcuma xanthorrhiza Roxb.

Die aus Temoe Lawak hergestellten Zubereitungen, wie Aufgüsse, Fluidextrakte und Arzneispezialitäten, werden als galletreibende Mittel verwendet. Temoe Lawak gehört zu den aromatischen Cholagoga, die sowohl cholekinetisch, d.h. die Gallenblase entleerend, wie choleretisch, d.h. die Gallensekretion in der Leber fördernd, wirken (Steinegger u. Hänsel, 1968).
Über die wirksamen Prinzipien der Droge bestehen widersprüchliche Ansichten. Während Guttenberg bereits 1926 im ätherischen Öl die eigentliche galletreibende Wirkung im Tierversuch nachwies, arbeitete Koch (1927) bei seinen Versuchen mit einem wäßrigen Aufguß der Droge. Den Gesamtextrakt, das ätherische Öl und die wasserlöslichen Bestandteile prüften Kalk u. Nissen (1931) in ausgedehnten Versuchen.

Sie stellten neben einer starken cholekinetischen Wirkung einen deutlichen choleretischen Effekt fest und empfahlen die Verwendung des Gesamtextraktes, der in Form des Präparates Temoebilin (Chemiewerk Homburg AG) in den Handel kam.
Franquelo (1933) glaubte dagegen, im Farbstoff Curcumin das wirksame Prinzip gefunden zu haben. Bei einer Untersuchung an Ratten stellte Grabe (1934) jedoch keinerlei Wirkung des Farbstoffes fest. Er schrieb die Wirkung dem ätherischen Öl und vor allem dem von Dieterle u. Kaiser (1932/1933) entdeckten p-Tolylmethylcarbinol zu.
In einer größeren Arbeit beschäftigte sich Robbes (1936) mit der Wirkung von p-Tolylmethylcarbinol und untersuchte neben Temeobelin auch die Natriumsalze des Farbstoffgemisches, die in der Form des Präparates Curcumen (Temmler-Werke) in den Handel kamen. Seine Untersuchungen ergaben in Übereinstimmung mit den Arbeiten von Kalk und Nissen (1931), daß sowohl das ätherische Öl wie auch das Farbstoffgemisch maßgeblich am Wirkungsmechanismus beteiligt sind, wobei p-Tolylmethylcarbinol den eigentlichen Wirkstoff darstelle. Diese Ansicht wurde dann auch von Kohlstaedt (1943) und von Isaac (1959) vertreten. Da aber möglicherweise diese Substanz ein bei höheren Temperaturen aus anderen Bestandteilen des ätherischen Öles entstehendes Artefakt darstellt (Gunster, 1943), ist es nach wie vor unsicher, welcher Stoff die galletreibende Wirkung verursacht. Die praktische Verwendung neuerer synthetischer Reinpräparate von ähnlicher Struktur, z.B. des von Kohlstaedt (1949) entwickelten p-tolylmethylcarbinolcampherestersauren Diäthanolamins (Synthobilin; Chemiewerk Homburg AG) scheint ihre Brauchbarkeit in Frage gestellt zu haben (Steinegger u. Hänsel, 1968).
Während Robbers (1936) bei pharmakologischen Untersuchungen an Hunden nur eine cholekinetische Wirkung des Farbstoffgemisches feststellte, wies Jentzsch (1959) nach, daß auch die Farbstoffe eine eindeutige choleretische Wirkung an Ratten besitzen. Diese Wirkung wird

wahrscheinlich durch die im Temoe Lawak vorhandene geringe Menge Campher noch verstärkt (Schreiber, 1925).
Eine der Ursachen für die gegenüber der Gelbwurz bessere Wirkung der Temoe-Lawak-Droge sieht Jentzsch (1959) im Fehlen des nur in der Gelbwurz vorhandenen p,p'-Dihydroxydicinnamoylmethans, das nach seinen Untersuchungen eine antagonistische, d.h. hier eine gallesekretionshemmende Wirkung aufweist.
Bereits Guttenberg (1926) stellte ferner eine antiseptische Wirkung des ätherischen Öles fest, das schon in geringen Mengen fäulniswidrig wirkt, den Hefepilz (Saccharomyces cerevisiae) inaktiviert und Staphylokokken-Kulturen hemmt. Diese Befunde wurden später von Kemkes (1943) bestätigt und ergänzt. Eine antiseptische Wirkung des Farbstoffgemisches stellte Schraufstädter (1949) fest.
Die Droge wird deshalb bei entzündlichen Erkrankungen der Gallenwege und der Gallenblase als Desinfiziens verwendet. Das Lösungsvermögen des ätherischen Öles für Gallensteine bei Cholelithiasis wird bei Schreiber (1925) angegeben.

2.) Rhizoma Curcuma domestica Val.

Diese Droge wird ebenfalls zur Behandlung bei Leber- und Gallenleiden verwendet, jedoch sollte bei der Anwendung als Arzneimittel besser Curcuma xanthorrhiza Roxb. gegeben werden, da das im Farbstoffgemisch vorhandene p,p'-Dihydroxydicinnamoylmethan deutlich gallesekretionshemmende Wirkung aufweist (Jentzsch, 1959). Die Verwendung der Droge als Stomachicum und Carminativum (Hager, 1949) und zum Würzen von Nahrungs- und Genußmitteln (Steinegger u. Hänsel, 1968) ist auf ihren Gehalt an ätherischem Öl zurückzuführen.
Daneben bildet die Gelbwurz den Hauptbestandteil des Gewürzes "Curry" (Burger, 1958).
Die enthaltenen Diferuloylmethanderivate werden zum Färben von Lebensmitteln, z.B. Speisesenf, Gebäck und Käse, aber auch für Öle, Firnis, Salben, Seide und Leder verwendet.

V. Die Biosynthese der Sesquiterpene

Das Vorkommen zahlreicher Sesquiterpene und die Auffindung einer neuen Verbindung dieser Stoffklasse im ätherischen Öl einer der beiden Curcuma-Arten legt es nahe, sich mit der Biosynthese dieser Verbindungen zu befassen.

Alle sekundären Pflanzenstoffe, die neben einer großen Anzahl chemischer Individuen im strukturellen Aufbau eine überraschende Mannigfaltigkeit aufweisen, besitzen im Vergleich dazu nur eine ganz geringe Zahl von Bausteinen, die an ihrem Grundgerüst beteiligt sind. Diese wenigen Grundbausteine stellen deshalb ein mögliches Ordnungsprinzip für die systematische Erfassung der sekundären Pflanzenstoffe dar.

Nach ihren wichtigsten Grundkörpern und deren Bauprinzip lassen sich die sekundären Pflanzenstoffe in fünf Gruppen aufgliedern:

1. die Polyacetate (Acetogenine)
2. die Isoprenoide
3. die Phenylpropane und
4. die stickstoffhaltigen Pflanzenstoffe, aus denen sich durch Verknüpfung verschiedener Bausteine
5. die Pflanzenstoffe mit gemischtem Bauprinzip herleiten lassen.

Die Isoprenoide besitzen als gemeinsames Aufbauprinzip das Isopren, von dem sich die verschiedenen Terpene durch weitere Verknüpfung derartiger C_5-Bausteine ableiten. Die hier interessierenden Sesquiterpene entstehen auf diese Weise durch Verknüpfung von drei Isopren-Einheiten.

Die Vorstellung, daß Isopren den Grundbaustein aller dieser Verbindungen bildet, geht auf Otto Wallach (1887) zurück. Sein zunächst auf Grund struktureller Zusammenhänge aufgestellter Bauplan der Terpene wurde durch eingehende Untersuchungen in den Jahren 1953 bis 1955 von Ruzicka, Eschenmoser und Heuser (Ruzicka, 1953 u. 1955) nach den

Grundsätzen der Isoprenregel biosynthetisch gesichert. Den Ausgangspunkt für die Biosynthese der Sesquiterpene bildet die Mevalonsäure, deren Entstehung aus dem Acetyl-Coenzym A erfolgt (Agranoff, 1959).
Danach entsteht primär aus zwei Molekülen Acetyl-Coenzym A das Acetacetyl-Coenzym A, das sich mit einem weiteren Molekül Acetyl-Coenzym A zum ß-Hydroxy-ß-methyl-glutaryl-Coenzym A kondensiert. Bei diesem letzten Schritt reagiert das Acetyl-Coenzym A mit der Ketogruppe der Acetessigsäure. Anschließend wird durch enzymatische Reduktion von ß-Hydroxy-ß-methyl-glutaryl-Coenzym A die Mevalonsäure gebildet.

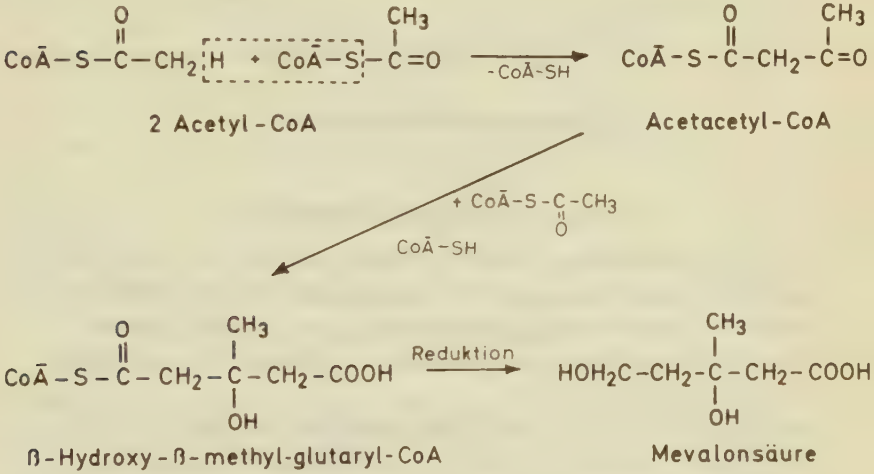
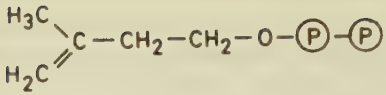


Abb. 4
Bildung der Mevalonsäure aus Acetyl-Coenzym A

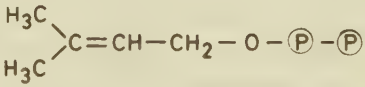
Die Mevalonsäure wird im Anschluß daran durch die Transpyrophosphorylase Adenosintriphosphat (ATP) zum Mevalonsäure-5-pyrophosphat umgebildet. Unter erneuter Mitwirkung von ATP erfolgt dann Decarboxylierung und Dehydratisierung unter Bildung von "aktivem Isopren", dem Isopentenylpyrophosphat.



Isopentenylpyrophosphat

Abb. 5
Isopentenylpyrophosphat

Das Isopentenylpyrophosphat wird dann unter dem Einfluß eines Enzyms in das isomere Dimethylallyl-pyrophosphat überführt.



Dimethylallylpyrophosphat

Abb. 6
Dimethylallylpyrophosphat

Mit der Verknüpfung dieser beiden C_5-Einheiten durch ein weiteres Enzym gelangen wir zum Grundkörper der Monoterpenreihe, dem Geranylpyrophosphat, das dann mit einem Molekül Isopentenylpyrophosphat zum Farnesylpyrophosphat verbunden wird.
Diese Verbindung mit dem Kohlenstoffgerüst des 2,6,10-Trimethyl-n-dodekans bildet die Ausgangssubstanz für alle Sesquiterpene, deren zyklische Vertreter durch innere C-C-Verknüpfungen entstehen.

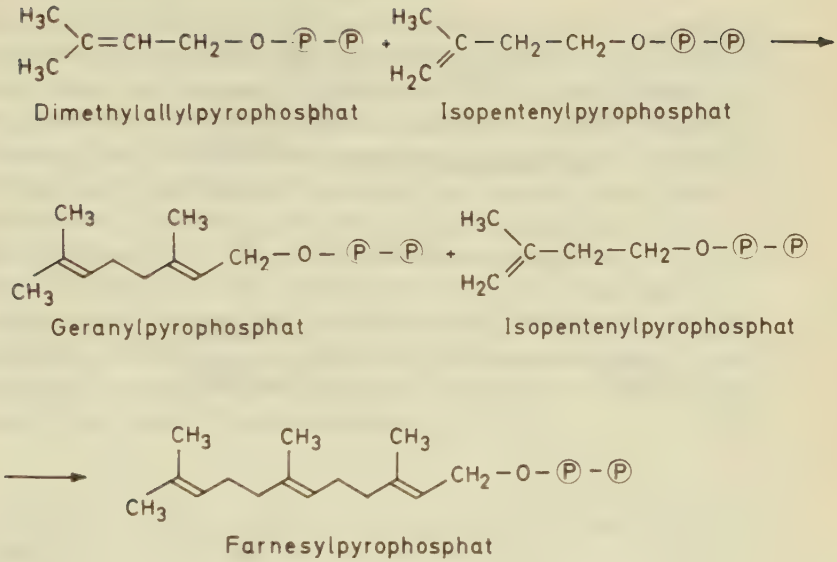


Abb. 7

Aufbau von Farnesylpyrophosphat

Dabei wird zunächst davon ausgegangen, daß das Grundgerüst nahezu aller Sesquiterpene durch eine entsprechende Zyklisierung von cis-Farnesylpyrophosphat oder trans-Farnesylpyrophosphat aufgebaut wird (Hendrickson, 1959). Die biogenetische Startreaktion dieser Zyklisierung besteht in der Abtrennung des Pyrophosphat-Anions und Ausbildung eines Kations unter Beteiligung der zentralen oder endständigen Doppelbindung.

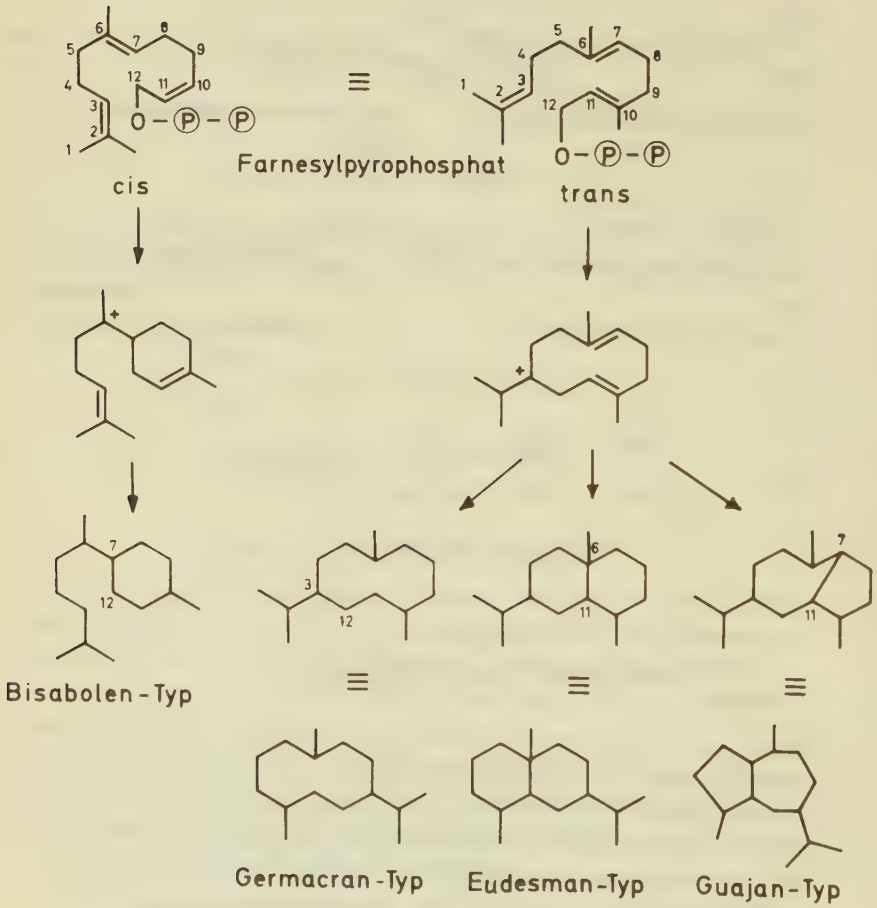


Abb. 8

Ableitung verschiedener Typen von Sesquiterpenen

Unter den etwa hundert bekannten Sesquiterpenen befinden sich zwei monozyklische, acht bizyklische und acht trizyklische Typen (Steinegger u. Hänsel, 1968).

In der Abb. 8 sind vier Grundtypen, die als Vertreter von Inhaltsstoffen wichtiger Arzneipflanzen von Bedeutung sind, von Farnesylpyrophosphat abgeleitet.
Aus dem cis-Farnesylpyrophosphat entstehen durch Ausbildung einer C-C-Bindung zwischen dem C-7 und dem C-12 die monozyklischen Sesquiterpene vom Bisabolan-Typ, während die drei anderen Vertreter aus dem trans-Farnesylpyrophosphat stammen. Durch Verknüpfung zwischen C-3 und C-12 gelangen wir zum monozyklischen Germacran-Typ, aus dem sich durch zusätzliche Bindungen vom C-11 aus die bizyklischen Typen des Eudesmans (C-11 zu C-6) und des Guajans (C-11 zu C-7) ableiten. Die bisher in den ätherischen Ölen der beiden Curcuma-Arten entdeckten monozyklischen Sesquiterpene sind ebenfalls Abkömmlinge des cis-Farnesylpyrophosphates. Die möglichen Biosynthesebeziehungen (Steinegger u. Hänsel,1968) sind in der Abb. 9 zusammengefaßt.

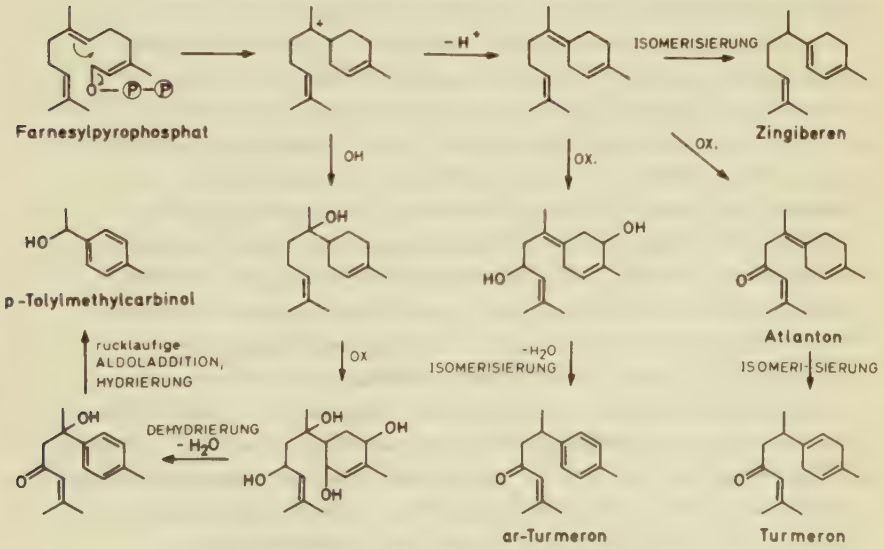


Abb. 9

Mögliche Biosynthesebeziehungen charakteristischer Inhaltsbestandteile von Curcuma-Ölen (nach Steinegger u.Hänsel,1968)

VI. Eigene Untersuchungen

A H a u p t t e i l

Ziel dieses Teils der Arbeit war es, die von uns nur dünnschichtchromatographisch mit einem Phenolreagenz nachgewiesene Verbindung, die wir Xanthorrhizol nannten, aus der lipophilen Phase von Temoe Lawak zu isolieren und ihre Konstitution aufzuklären. Dabei ging es zunächst darum, in orientierenden Vorversuchen das Vorhandensein dieses neuen Inhaltsstoffes in Curcuma xanthorrhiza Roxb. und in Curcuma domestica L. zu prüfen.

1. Isolierung von Xanthorrhizol

1.1. Dünnschichtchromatographische Voruntersuchungen der beiden Curcuma-Arten

Für die dünnschichtchromatographischen Untersuchungen wurden von beiden Drogen vorbereitete Methanol- und Methylenchlorid-Extrakte gleicher Konzentration verwendet und zum Vergleich das durch Wasserdampfdestillation gewonnene ätherische Öl mit aufgetragen. Als Laufmittel wurden zwei Systeme gewählt, die sich gut zur Trennung phenolischer Naturstoffe eignen. Davon wurde das Gemisch (1) Benzol/Chloroform/Methanol (200:100:3) einer Arbeit von Winkler und Lunau (1959) entnommen, die sich ebenfalls mit den Inhaltsstoffen von Curcuma xanthorrhiza befaßten, während das Gemisch (2) n-Hexan/Benzol/Methanol (90:10:1) speziell zur Auftrennung und Identifizierung von Xanthorrhizol entwickelt wurde. Dabei zeigte es sich, daß im Laufmittel (1) der Rf-Wert der gesuchten Substanz mit 0,53 bedeutend höher lag als im System (2), wo der Rf-Wert 0,13 betrug. Aus beiden Chromatogrammen geht weiter hervor, daß eine große Anzahl von Begleitsubstanzen vorhanden waren, welche die Isolierung der gesuchten Substanz erschwerten (s.Abb. 29). Zur Identifizierung von Xanthorrhizol wurden die DC-Chromatogramme mit einer 1%igen äthanolischen Lösung von 2,6-Dichlorchinonchlorimid (Gibbs Reagenz) besprüht und anschließend mit konzentriertem Ammoniak

In der Abb. 8 sind vier Grundtypen, die als Vertreter von Inhaltsstoffen wichtiger Arzneipflanzen von Bedeutung sind, von Farnesylpyrophosphat abgeleitet.
Aus dem cis-Farnesylpyrophosphat entstehen durch Ausbildung einer C-C-Bindung zwischen dem C-7 und dem C-12 die monozyklischen Sesquiterpene vom Bisabolan-Typ, während die drei anderen Vertreter aus dem trans-Farnesylpyrophosphat stammen. Durch Verknüpfung zwischen C-3 und C-12 gelangen wir zum monozyklischen Germacran-Typ, aus dem sich durch zusätzliche Bindungen vom C-11 aus die bizyklischen Typen des Eudesmans (C-11 zu C-6) und des Guajans (C-11 zu C-7) ableiten. Die bisher in den ätherischen Ölen der beiden Curcuma-Arten entdeckten monozyklischen Sesquiterpene sind ebenfalls Abkömmlinge des cis-Farnesylpyrophosphates. Die möglichen Biosynthesebeziehungen (Steinegger u. Hänsel,1968) sind in der Abb. 9 zusammengefaßt.

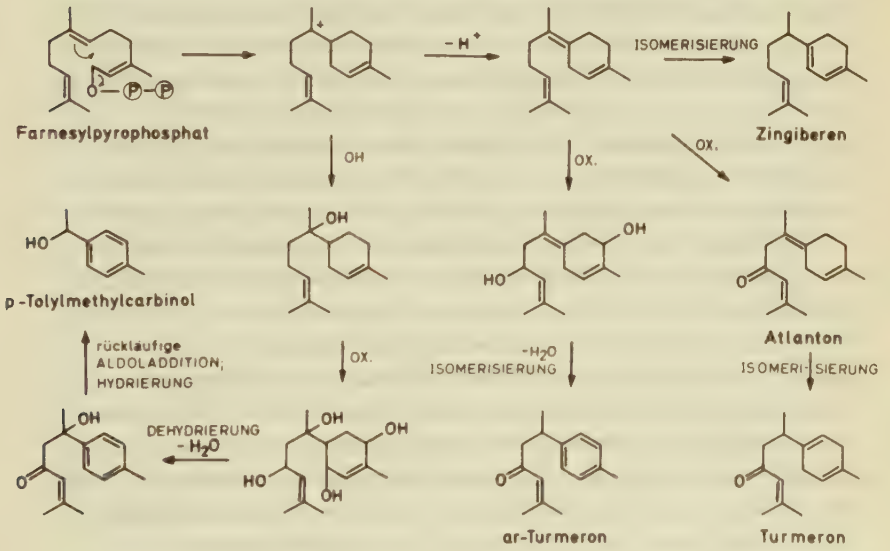


Abb. 9

Mögliche Biosynthesebeziehungen charakteristischer Inhaltsbestandteile von Curcuma-Ölen (nach Steinegger u.Hänsel,1968)

VI. Eigene Untersuchungen

A H a u p t t e i l

Ziel dieses Teils der Arbeit war es, die von uns nur dünnschichtchromatographisch mit einem Phenolreagenz nachgewiesene Verbindung, die wir Xanthorrhizol nannten, aus der lipophilen Phase von Temoe Lawak zu isolieren und ihre Konstitution aufzuklären. Dabei ging es zunächst darum, in orientierenden Vorversuchen das Vorhandensein dieses neuen Inhaltsstoffes in Curcuma xanthorrhiza Roxb. und in Curcuma domestica L. zu prüfen.

1. Isolierung von Xanthorrhizol

1.1. Dünnschichtchromatographische Voruntersuchungen der beiden Curcuma-Arten

Für die dünnschichtchromatographischen Untersuchungen wurden von beiden Drogen vorbereitete Methanol- und Methylenchlorid-Extrakte gleicher Konzentration verwendet und zum Vergleich das durch Wasserdampfdestillation gewonnene ätherische Öl mit aufgetragen. Als Laufmittel wurden zwei Systeme gewählt, die sich gut zur Trennung phenolischer Naturstoffe eignen. Davon wurde das Gemisch (1) Benzol/Chloroform/Methanol (200:100:3) einer Arbeit von Winkler und Lunau (1959) entnommen, die sich ebenfalls mit den Inhaltsstoffen von Curcuma xanthorrhiza befaßten, während das Gemisch (2) n-Hexan/Benzol/Methanol (90:10:1) speziell zur Auftrennung und Identifizierung von Xanthorrhizol entwickelt wurde. Dabei zeigte es sich, daß im Laufmittel (1) der Rf-Wert der gesuchten Substanz mit 0,53 bedeutend höher lag als im System (2), wo der Rf-Wert 0,13 betrug. Aus beiden Chromatogrammen geht weiter hervor, daß eine große Anzahl von Begleitsubstanzen vorhanden waren, welche die Isolierung der gesuchten Substanz erschwerten (s.Abb. 29). Zur Identifizierung von Xanthorrhizol wurden die DC-Chromatogramme mit einer 1%igen äthanolischen Lösung von 2,6-Dichlorchinonchlorimid (Gibbs Reagenz) besprüht und anschließend mit konzentriertem Ammoniak

bedampft. Dabei zeigte das gesuchte Xanthorrhizol einen deutlich sichtbaren, hellblauen Fleck, der nach einiger Zeit nachdunkelte und violett wurde.
Durch Vergleich der entsprechenden Extrakte konnten wir feststellen, daß sich Xanthorrhizol nur in Curcuma xanthorrhiza Roxb., nicht dagegen in Curcuma domestica L. nachweisen ließ. Das bei diesen Versuchen mitaufgetragene Curcumin blieb in beiden Fließmittelsystemen in der Nähe des Startpunktes liegen.
Die aus dieser dünnschichtchromatographischen Untersuchung gewonnenen Erkenntnisse wurden nun zur Isolierung der Reinsubstanz herangezogen.

1.2. Isolierung von Xanthorrhizol aus dem Wurzelstock von Curcuma xanthorrhiza Roxb.

Das getrocknete und fein gepulverte Drogenmaterial wurde zunächst mit Methylenchlorid bei niedrigen Temperaturen solange extrahiert, bis sich das ablaufende Lösungsmittel im Soxhlet-Extraktor nur noch schwach gelblich färbte. Dieser Extrakt stand uns in größerer Menge zur Verfügung.*
Im Anschluß daran wurde der Methylenchlorid-Extrakt im Vakuum zur dickflüssigen Konsistenz eingedampft, bis kein weiteres Lösungsmittel mehr überging. Es entstand dadurch ein dickflüssiger, gelblich-brauner, stark färbender, öliger Rückstand von aromatischem Geruch, der beim Erkalten teilweise Klumpen bildete.
Zur weiteren Verarbeitung wurden zwei Verfahren angewendet, bei denen einmal durch Wasserdampfdestillation bei höheren Temperaturen, zum anderen durch Verwendung der Säulenchromatographie bei Raumtemperatur gearbeitet wurde.
Beide Verfahren führten zu etwa gleich großen Ausbeuten an Xanthorrhizol.

---

* Herkunft siehe Seite 59

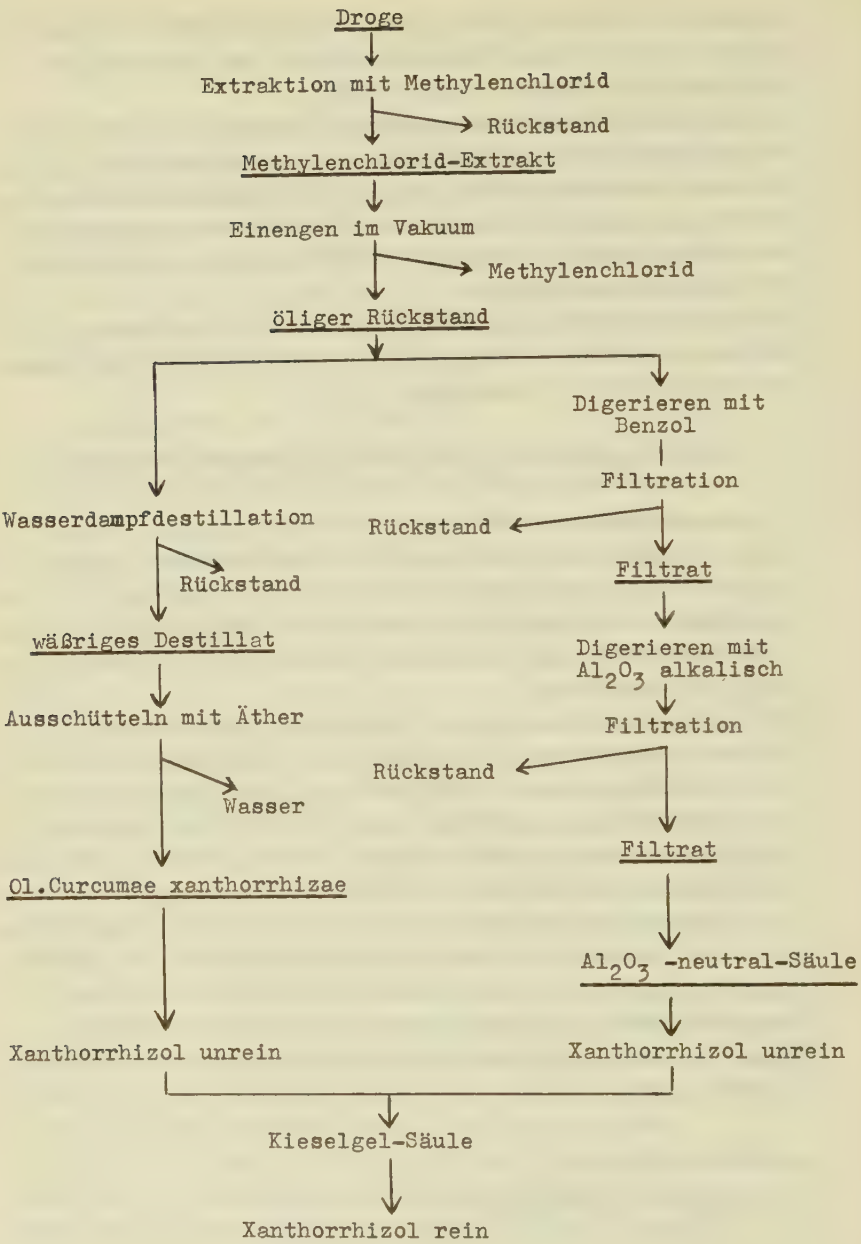


Abb. 10

Darstellung der Auferbeitung von Xanthorrhizol aus Curcuma xanthorrhiza Roxb.

Das bei der Wasserdampfdestillation des öligen Rückstandes entstehende wäßrige Destillat wurde mehrfach mit Äther ausgeschüttelt. Nach dem Abdampfen des Äthers wurde ein schwach gelbes, aromatisch duftendes Öl gewonnen.
Dieses Öl wurde anschließend auf eine Kieselgel-Säule gegeben. Entwickelt und eluiert wurde mit dem Gemisch (1) Benzol/Chloroform/Methanol (200:100:3), wobei verschiedene Fraktionen gewonnen wurden, von denen eine das reine Xanthorrhizol enthielt.
Das andere Verfahren bestand darin, daß der ölige Rückstand der Methylenchlorid-Extraktion in Benzol gelöst wurde und der unlösliche Rückstand abfiltriert wurde. Das Filtrat wurde zunächst kurz mit Aluminiumoxyd (alkalisch) digeriert, wobei weitere Begleitstoffe eleminiert wurden. Das sich dabei rot färbende Aluminiumoxyd wurde abfiltriert und das Filtrat über eine neutrale Aluminiumoxyd-Säule mit verschiedenen Lösungsmitteln weiter aufgetrennt.
Zunächst wurde zur Entfernung noch vorhandener lipophiler Begleitstoffe mit reinem Benzol entwickelt und eluiert. Danach wurde eine Mischung von Benzol und 1%igem Methanol auf die Säule gegeben, wobei eine Fraktion mit leicht verunreinigtem Xanthorrhizol gewonnen werden konnte. Dieses wurde dann entsprechend dem Verfahren, das sich an die Wasserdampfdestillation anschloß, über eine Kieselgelsäule zu reinem Xanthorrhizol aufgearbeitet.

1.3. Phenolnachweis durch Sprühreagenzien und Farbreaktionen

Nachdem durch Besprühen der DC-Platten mit Gibbs Reagenz bereits ein erster Hinweis auf eine mögliche phenolische Struktur von Xanthorrhizol erfolgt war, versuchten wir durch weitere Sprühreagenzien das Vorhandensein eines Phenols zu bestätigen. Dabei ergab sich neben der Blaufärbung mit Gibbs Reagenz durch 25%ige Antimon-III-chlorid-Lösung in Chloroform eine Gelbfärbung, mit alka-

lischer Echtblausalz B-Lösung eine rötliche, später in gelb-orange übergehende Färbung, während mit 2%iger äthanolischer Eisen-III-chlorid-Lösung keine Färbung eintrat.
Das chromatographische Verhalten sowie die Anfärbbarkeit mit einem Teil der genannten Sprühreagenzien bestätigte das Vorliegen einer phenolischen Substanz.
Die nicht erfolgte Anfärbung mit Eisen-III-chlorid-Lösung wies auf eine mögliche Ähnlichkeit der Stellung der phenolischen Hydroxylgruppe mit der von Thymol hin, das sich ebenfalls mit diesem Reagenz nicht anfärben läßt (Bamann u. Ullmann, 1960), während Carvacrol eine olivgrüne Farbe ergab.
Abschließend wurden Xanthorrhizol, Carvacrol und Thymol auf mögliche Übereinstimmung der Farbreaktionen nach Lustgarten geprüft (Bamann u. Ullmann, 1960). Dazu wurden die Substanzen in wenig 50%iger Kalilauge gelöst, erwärmt und einige Tropfen Chloroform hinzugefügt. Nach kräftigem Umschütteln ergab Thymol und Carvacrol eine rotviolette, Xanthorrhizol dagegen eine hellrote Färbung.

	KOH/Chloroform	$FeCl_3$	Gibbs Reagenz
Carvacrol	rotviolett	olivgrün	blau
Thymol	rotviolett	--	blau
Xanthorrhizol	hellrot	--	blau

Tabelle 1
Farbreaktionen von Thymol, Carvacrol und Xanthorrhizol mit Phenolreagenzien

Das bei der Wasserdampfdestillation des öligen Rückstandes entstehende wäßrige Destillat wurde mehrfach mit Äther ausgeschüttelt. Nach dem Abdampfen des Äthers wurde ein schwach gelbes, aromatisch duftendes Öl gewonnen.
Dieses Öl wurde anschließend auf eine Kieselgel-Säule gegeben. Entwickelt und eluiert wurde mit dem Gemisch (1) Benzol/Chloroform/Methanol (200:100:3), wobei verschiedene Fraktionen gewonnen wurden, von denen eine das reine Xanthorrhizol enthielt.
Das andere Verfahren bestand darin, daß der ölige Rückstand der Methylenchlorid-Extraktion in Benzol gelöst wurde und der unlösliche Rückstand abfiltriert wurde. Das Filtrat wurde zunächst kurz mit Aluminiumoxyd (alkalisch) digeriert, wobei weitere Begleitstoffe eleminiert wurden. Das sich dabei rot färbende Aluminiumoxyd wurde abfiltriert und das Filtrat über eine neutrale Aluminiumoxyd-Säule mit verschiedenen Lösungsmitteln weiter aufgetrennt.
Zunächst wurde zur Entfernung noch vorhandener lipophiler Begleitstoffe mit reinem Benzol entwickelt und eluiert. Danach wurde eine Mischung von Benzol und 1%igem Methanol auf die Säule gegeben, wobei eine Fraktion mit leicht verunreinigtem Xanthorrhizol gewonnen werden konnte. Dieses wurde dann entsprechend dem Verfahren, das sich an die Wasserdampfdestillation anschloß, über eine Kieselgelsäule zu reinem Xanthorrhizol aufgearbeitet.

1.3. Phenolnachweis durch Sprühreagenzien und Farbreaktionen

Nachdem durch Besprühen der DC-Platten mit Gibbs Reagenz bereits ein erster Hinweis auf eine mögliche phenolische Struktur von Xanthorrhizol erfolgt war, versuchten wir durch weitere Sprühreagenzien das Vorhandensein eines Phenols zu bestätigen. Dabei ergab sich neben der Blaufärbung mit Gibbs Reagenz durch 25%ige Antimon-III-chlorid-Lösung in Chloroform eine Gelbfärbung, mit alka-

lischer Echtblausalz B-Lösung eine rötliche, später in gelb-orange übergehende Färbung, während mit 2%iger äthanolischer Eisen-III-chlorid-Lösung keine Färbung eintrat.
Das chromatographische Verhalten sowie die Anfärbbarkeit mit einem Teil der genannten Sprühreagenzien bestätigte das Vorliegen einer phenolischen Substanz.
Die nicht erfolgte Anfärbung mit Eisen-III-chlorid-Lösung wies auf eine mögliche Ähnlichkeit der Stellung der phenolischen Hydroxylgruppe mit der von Thymol hin, das sich ebenfalls mit diesem Reagenz nicht anfärben läßt (Bamann u. Ullmann, 1960), während Carvacrol eine olivgrüne Farbe ergab.
Abschließend wurden Xanthorrhizol, Carvacrol und Thymol auf mögliche Übereinstimmung der Farbreaktionen nach Lustgarten geprüft (Bamann u. Ullmann, 1960). Dazu wurden die Substanzen in wenig 50%iger Kalilauge gelöst, erwärmt und einige Tropfen Chloroform hinzugefügt. Nach kräftigem Umschütteln ergab Thymol und Carvacrol eine rotviolette, Xanthorrhizol dagegen eine hellrote Färbung.

	KOH/Chloroform	$FeCl_3$	Gibbs Reagenz
Carvacrol	rotviolett	olivgrün	blau
Thymol	rotviolett	--	blau
Xanthorrhizol	hellrot	--	blau

Tabelle 1
Farbreaktionen von Thymol, Carvacrol und Xanthorrhizol mit Phenolreagenzien

2. Eigenschaften von Xanthorrhizol und ihre Charakterisierung durch analytische und chemische Methoden

2.1. Eigenschaften von Xanthorrhizol

Xanthorrhizol wurde als fast farbloses, klares Öl gewonnen, daß sich nicht in kristalline Form bringen ließ. Die Substanz zeigte phenolische Eigenschaften. Beim Versuch der Vakuumdestillation trat unter Verkohlungserscheinungen rasch Zersetzung ein.
Die spezifische Drehung betrug

$$[\alpha]_D^{20^\circ} = -52{,}5^\circ$$

Bei der Messung der optischen Drehung ergab sich eine Linksdrehung des polarisierten Lichtstrahles, so daß die Substanz mindestens ein optisch aktives C-Atom enthält.

2.2. Strukturaufklärung von Xanthorrhizol durch kombinierte Anwendung von UV-, IR-, NMR- und Massenspektroskopie

Das UV-Spektrum zeigte mit einem Absorptionsmaximum bei der Wellenlänge λ_{max} 276 nm ($\lg \varepsilon = 3{,}35$; $\varepsilon = 2232$) einen für substituierte Phenole typischen Verlauf (Abb.11).

Die elementare Zusammensetzung der Verbindung ergab sich aus dem Molekülion m/e 218 des Massenspektrums und den Daten der Elementaranalyse. Sie führten zu der Bruttoformel $C_{15}H_{22}O$ und dem Molekulargewicht 218,34. Aus der Molekülformel wurde die Anzahl der Doppelbindungsäquivalente mit 5 errechnet. Da der bereits bekannte Benzolring insgesamt 4 Doppelbindungsäquivalente (ein Ring und drei Doppelbindungen) beanspruchte, mußte sich eine Doppelbindung in der Seitenkette befinden.

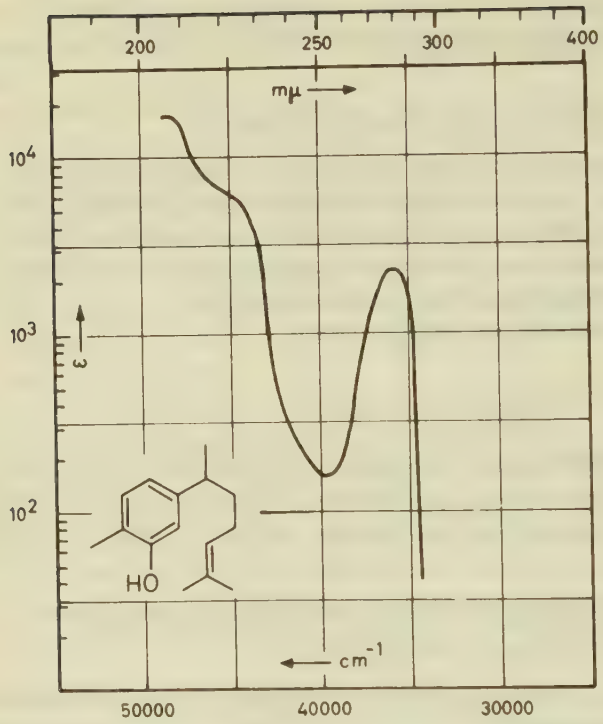


Abb. 11
UV-Spektrum von Xanthorrhizol

Im NMR-Spektrum (Abb. 12) ließ sich bei 1,2 ppm ein Dublett erkennen, das einer Methylgruppe der aliphatischen Seitenkette zuzuordnen war, die durch ein benachbartes Proton aufgespalten wurde. Dieses Proton fanden wir bei 2,5 ppm als Multiplett, da es durch die benachbarte Methylgruppe und außerdem durch eine Methylengruppe weiter aufgespalten wurde.

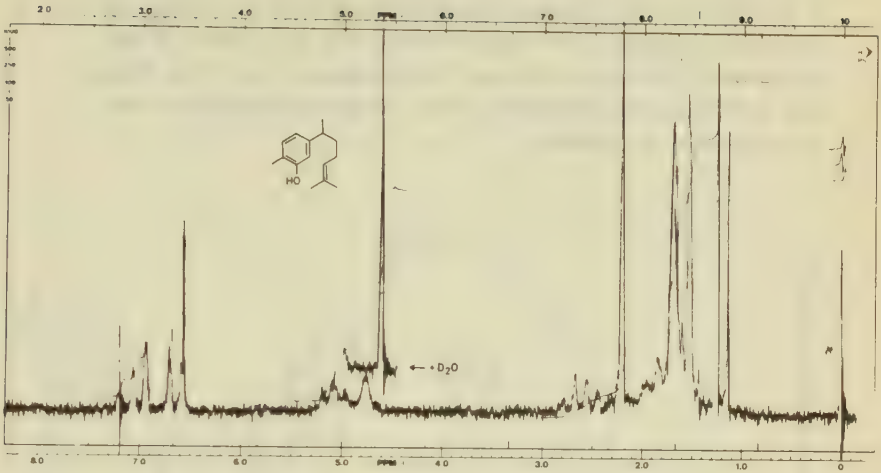


Abb. 12

NMR-Spektrum von Xanthorrhizol, aufgenommen in $CDCl_3$ bei 60 MHz

Da die Kopplungskonstante mit 7 Hz zwischen dem Proton, der Methyl- und der Methylengruppe ungefähr gleich groß war, trat eine starke Überlappung der Linien ein. Hinweise auf diese gesättigten C-H-Gruppen brachte auch das IR-Spektrum (Abb. 13) im Bereich der C-H-Valenzschwingungen mit starken Banden im Bereich von 2860 und 2960 cm^{-1}. Bei 1420 und 1440 cm^{-1} traten Deformationsschwingungen von CH_2-Gruppen auf, während bei 1370 cm^{-1} die Bande einer Isopropylengruppe zu erkennen war. Dazu fanden wir im Bereich von 1,55 und 1,65 ppm im NMR-Spektrum zwei Peaks, die den beiden Methylgruppen einer Isopropylengruppe zuzuordnen waren.

Neben den Peaks dieser Methylgruppen waren die Signale der restlichen Methylengruppen der Seitenkette breit und undefiniert im Bereich von 1,3 bis 2,0 ppm anzutreffen. Die Breite erklärte sich durch die ausgedehnte Spin-Spin-Kopplung zwischen diesen Protonen mit ähnlicher chemischer

Verschiebung, wobei mehrere unaufgelöste Multipletts entstanden. Im Bereich von 1,0 bis 3,0 ppm entsprach 1 Proton bei der Integration einer Höhe von 12 mm, so daß das Integral über dem Bereich von 1,3 bis 2,0 ppm mit einer Höhe von 11,8 mm 10 Protonen, d.h. der Summe der Protonen der Methylen- und Isopropylengruppen der Seitenkette entsprach.

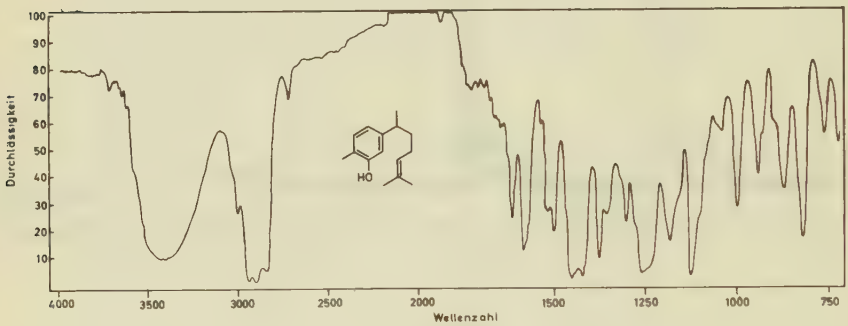


Abb. 13

IR-Spektrum von Xanthorrhizol in KBr

Einen weiteren Hinweis auf die Doppelbindung in der Seitenkette fanden wir im NMR-Spektrum durch das Auftreten des Signals bei 5,1 ppm, das dem Proton an einer trisubstituierten Doppelbindung zuzuordnen war. Auch im IR-Spektrum konnte die Anwesenheit einer ungesättigten Bindung durch eine schwache C-H-Valenzschwingungsbande bei 3030 cm^{-1} festgestellt werden.
Im NMR-Spektrum trat bei 2,2 ppm das Singulett einer aromatischen Methylgruppe auf, während die 3 aromatischen Protonen als Signale zwischen 6,6 und 7,1 ppm zu erkennen waren.

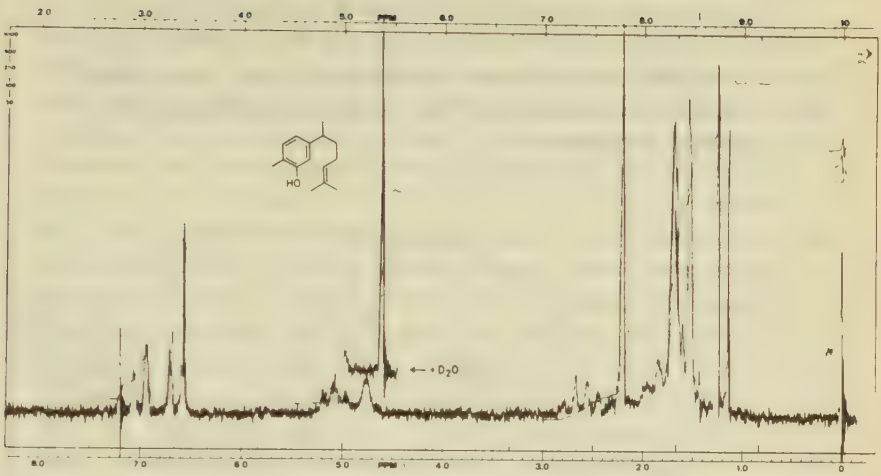


Abb. 12

NMR-Spektrum von Xanthorrhizol, aufgenommen in $CDCl_3$ bei 60 MHz

Da die Kopplungskonstante mit 7 Hz zwischen dem Proton, der Methyl- und der Methylengruppe ungefähr gleich groß war, trat eine starke Überlappung der Linien ein. Hinweise auf diese gesättigten C-H-Gruppen brachte auch das IR-Spektrum (Abb. 13) im Bereich der C-H-Valenzschwingungen mit starken Banden im Bereich von 2860 und 2960 cm^{-1}. Bei 1420 und 1440 cm^{-1} traten Deformationsschwingungen von CH_2-Gruppen auf, während bei 1370 cm^{-1} die Bande einer Isopropylengruppe zu erkennen war. Dazu fanden wir im Bereich von 1,55 und 1,65 ppm im NMR-Spektrum zwei Peaks, die den beiden Methylgruppen einer Isopropylengruppe zuzuordnen waren.

Neben den Peaks dieser Methylgruppen waren die Signale der restlichen Methylengruppen der Seitenkette breit und undefiniert im Bereich von 1,3 bis 2,0 ppm anzutreffen. Die Breite erklärte sich durch die ausgedehnte Spin-Spin-Kopplung zwischen diesen Protonen mit ähnlicher chemischer

Verschiebung, wobei mehrere unaufgelöste Multipletts entstanden. Im Bereich von 1,0 bis 3,0 ppm entsprach 1 Proton bei der Integration einer Höhe von 12 mm, so daß das Integral über dem Bereich von 1,3 bis 2,0 ppm mit einer Höhe von 11,8 mm 10 Protonen, d.h. der Summe der Protonen der Methylen- und Isopropylengruppen der Seitenkette entsprach.

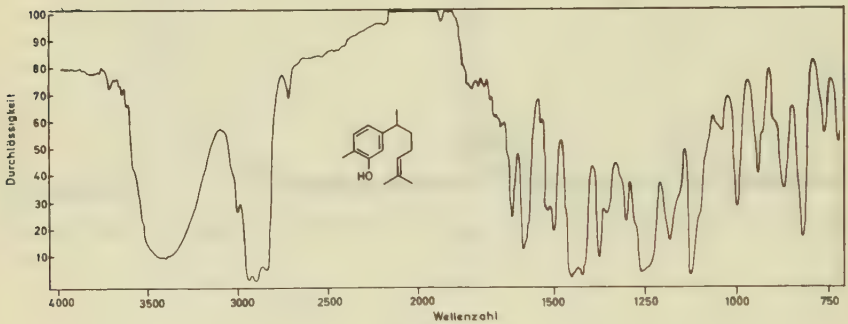


Abb. 13

IR-Spektrum von Xanthorrhizol in KBr

Einen weiteren Hinweis auf die Doppelbindung in der Seitenkette fanden wir im NMR-Spektrum durch das Auftreten des Signals bei 5,1 ppm, das dem Proton an einer trisubstituierten Doppelbindung zuzuordnen war. Auch im IR-Spektrum konnte die Anwesenheit einer ungesättigten Bindung durch eine schwache C-H-Valenzschwingungsbande bei 3030 cm^{-1} festgestellt werden.

Im NMR-Spektrum trat bei 2,2 ppm das Singulett einer aromatischen Methylgruppe auf, während die 3 aromatischen Protonen als Signale zwischen 6,6 und 7,1 ppm zu erkennen waren.

Damit mußte ein trisubstituierter Benzolring vorhanden sein. Behandelt man diesen Teil des Spektrums in erster Näherung als ein ABX-System, so kann man für die Kopplungskonstante J_{AB} einen Wert von etwa 7 Hz und für $J_{AX} + J_{BX}$ einen Wert von etwa 4 Hz feststellen. Die Substituenten am Benzolring mußten also demnach die Stellungen 1,2 und 4 einnehmen. In Übereinstimmung mit charakteristischen Banden im "fingerprint"-Bereich des IR-Spektrums bei 1175, 1120, 810 und 860 cm^{-1} war damit die Wahrscheinlichkeit eines 1,2,4-Substitutionsmusters für Xanthorrhizol gegeben. Das aromatische Ringsystem konnte auch im IR-Spektrum durch C-H-Valenzschwingungsbanden bei 3030 cm^{-1} und durch die Lage und Stärke der Banden bei 1610, 1580 und 1500 cm^{-1} identifiziert werden. Die breite und intensive Bande bei 3430 cm^{-1} deutete auf eine C-H-Valenzschwingung der in einer Hydroxylgruppe vorhandenen intermolekularen Wasserstoffbrücke hin, während die entsprechend scharfe Bande der freien OH-Gruppe bei 3650 cm^{-1} zu finden war. Im NMR-Spektrum erschien das Signal der Hydroxylgruppe bei 4,8 ppm, wie sich durch Austausch mit Deuteriumoxyd nachweisen ließ.
Die Ergebnisse der UV-, NMR- und IR-Spektroskopie ließen sich folgendermaßen zusammenfassen:

1. Die Verbindung bestand aus einem mehrfach substituierten Aromaten, dessen Substituenten sich in 1,2,4-Stellung befanden (1 Hydroxyl- und 1 Methylgruppe).

2. Am Aromaten befand sich eine aliphatische Seitenkette mit 3 Methylgruppen, von denen 2 zu einer Isopropylengruppe gehörten.

3. Die Anzahl von 15 C-Atomen im Molekül ließ uns das Vorliegen eines monozyklischen, phenolischen Sesquiterpens als Grundstruktur annehmen.

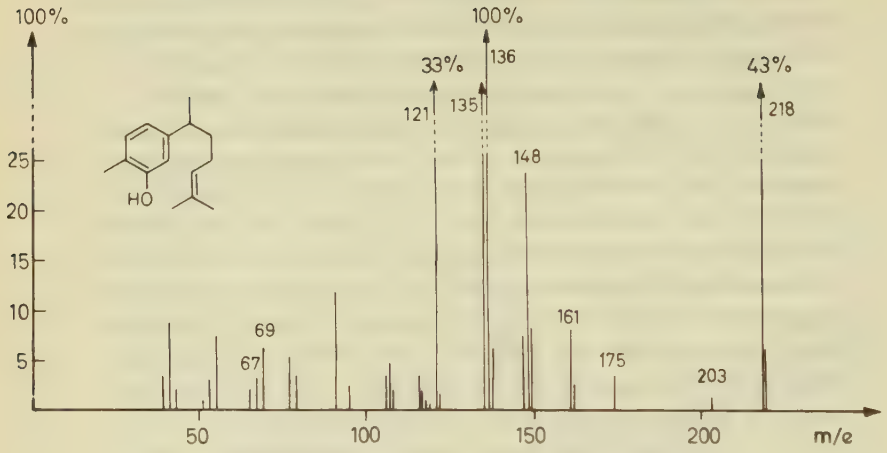
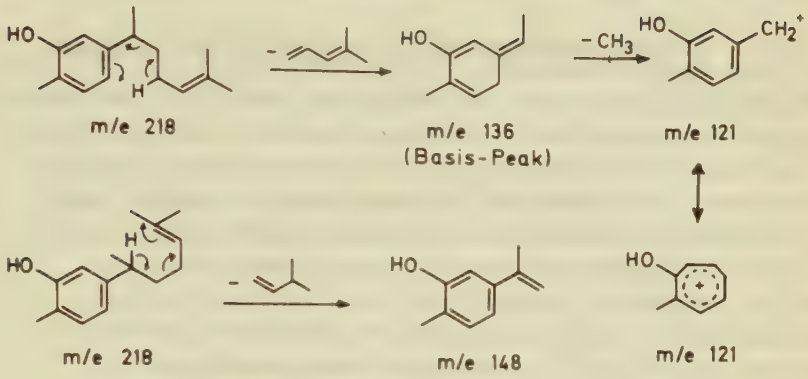


Abb. 14

Massenspektrum von Xanthorrhizol

Das Massenspektrum von Xanthorrhizol zeigte neben dem Molekülion m/e 218 als Basis-Peak das Bruchstück m/e 136, das durch McLafferty-Umlagerung unter Eliminierung einer C_6H_{10}-Einheit aus der Seitenkette entstanden war. Durch die Abtrennung einer Methylgruppe aus dem Molekülion entstand das Fragment m/e 203.
Ebenfalls durch McLafferty-Umlagerung waren auch die Bildung der Bruchstücke m/e 148 und m/e 69 unter Bruch der Seitenkette zu deuten. Die Eliminierung einer Methylgruppe aus dem Basis-Peak m/e 136 führte zum Fragment m/e 121; dieser Übergang konnte durch einen metastabilen Peak bei m^*=108 bestätigt werden.
Die Bruchstückbildung ergibt sich aus Abbildung 15.

McLafferty - Umlagerungen



Fragmentierung

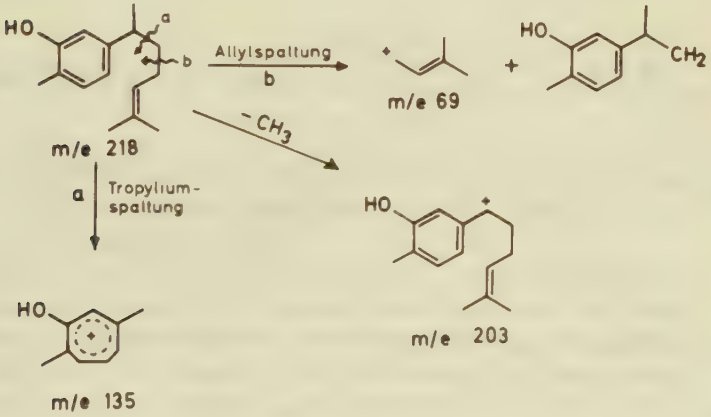


Abb. 15

Schema der Fragmentierung im Massenspektrum von Xanthorrhizol

Die Ergebnisse der UV-, NMR-, IR- und Massenspektroskopie versuchten wir anschließend durch einige chemische Reaktionen mit Xanthorrhizol zu ergänzen.

2.3. Einige chemische Methoden zur Strukturaufklärung von Xanthorrhizol

Zum Nachweis der freien Hydroxylgruppe wurde die Verbindung in den entsprechenden Methyläther überführt. Dabei stellten wir fest, daß eine Methylierung mit Diazomethan nicht möglich war. Zu dem gleichen Ergebnis kamen wir später auch bei Methylierungsversuchen von Thymol und Carvacrol (siehe dort). Als Methylierungsmittel wurde deshalb Dimethylsulfat verwendet. Da auch hier eine quantitative Umsetzung nicht stattfand, mußte der Methyläther von Xanthorrhizol von nicht umgesetzter Ausgangssubstanz über eine Kieselgelsäule gereinigt werden.
Der Methyläther von Xanthorrhizol bildete ein schwach gelbes Öl. Seine Identität wurde durch NMR- und IR-Spektrum bestätigt.

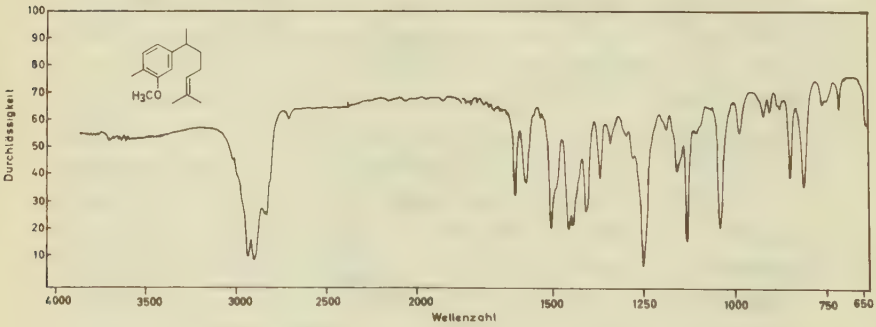


Abb. 16

IR-Spektrum von Xanthorrhizolmethyläther in KBr

Im IR-Spektrum des Methyläthers fehlten die bei Xanthorrhizol auftretenden starken Valenzschwingungsbanden bei 3430 cm^{-1} und die entsprechende Bande einer freien OH-Gruppe,

während im NMR-Spektrum das Signal bei 4,8 ppm (Hydroxylgruppe) verschwunden war. Dafür trat im Methyläther bei 3,8 ppm ein neues Singulett einer OCH_3-Gruppe auf (Abb.17).

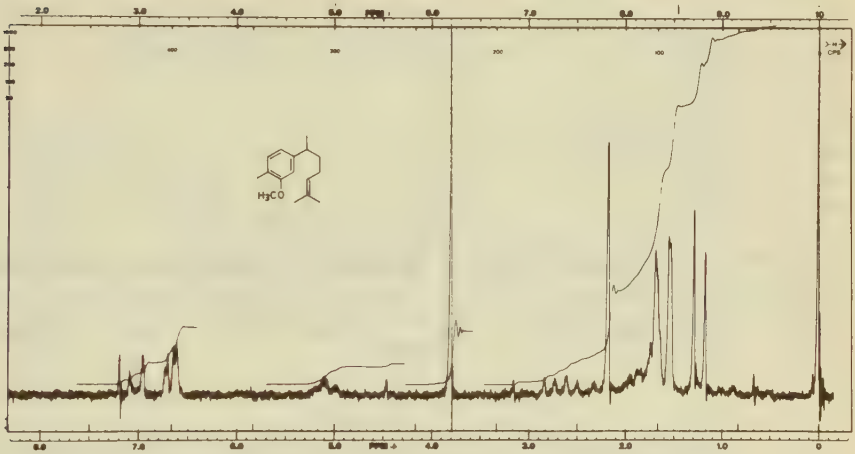


Abb. 17

NMR-Spektrum von Xanthorrhizolmethyläther, aufgenommen in $CDCl_3$ bei 60 MHz

Durch Umsetzung mit 3,5-Dinitrobenzoylchlorid versuchten wir einen weiteren Nachweis der phenolischen Struktur zu erbringen.
Daneben hofften wir, von der als Öl vorliegenden Verbindung ein kristallines Derivat herstellen zu können.
Nach der Umsetzung mit dem entsprechenden Benzoylchlorid erhielten wir einen öligen Rückstand, der zunächst mit Äther aus dem Reaktionsgemisch abgetrennt wurde. Nachdem dünnschichtchromatographisch noch stärkere Verunreinigungen festgestellt wurden, konnten wir die Verbindung durch Auftrennung über Kieselgel-Säulen rein isolieren.
Wir erhielten ein fast farbloses Öl, das zwar langsam erstarrte, jedoch trotz mehrfacher Versuche nicht kristallin erhalten werden konnte.

Den Beweis der Identität erhielten wir durch die Werte der C,H,N-Analyse und durch das IR- und NMR-Spektrum.

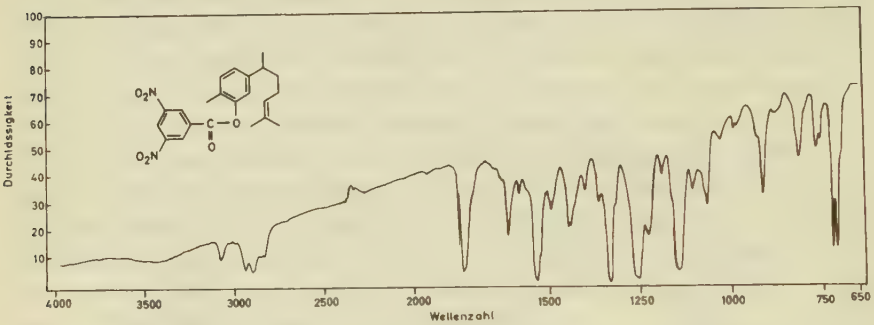


Abb. 18

IR-Spektrum des 3,5-Dinitrobenzoates von Xanthorrhizol in KBr

Im Bereich der C-H-Valenzschwingungen zeigten die Bande bei 3080 cm^{-1} und die Banden bei 1615 und 1500 cm^{-1} die Anwesenheit aromatischer Ringsysteme. Eine starke Carbonylbande lag bei 1740 cm^{-1}, die dem Ester zugeordnet werden konnte. Die starken Banden bei 1535 und 1340 cm^{-1} ließen sich erklären durch asymmetrische Valenzschwingung der NO-Bindung der beiden aromatischen Nitro-Gruppen.

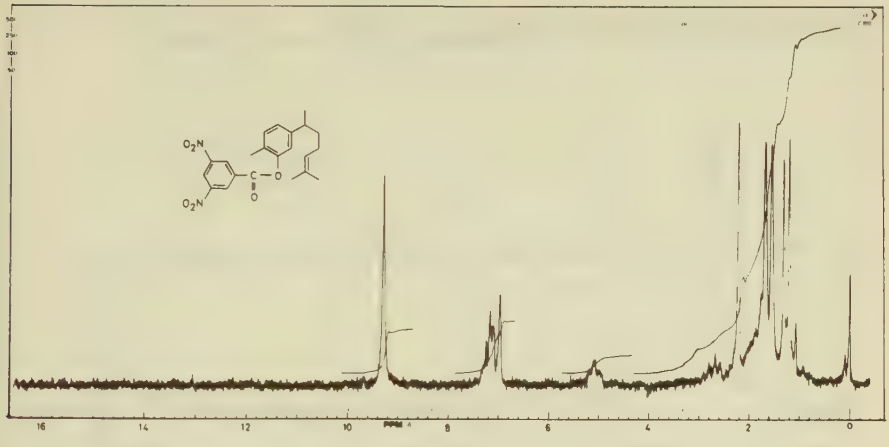


Abb. 19

NMR-Spektrum von Xanthorrhizol-3,5-dinitrobenzoat, aufgenommen in $CDCl_3$, Registrierbereich 1000, bei 60 MHz

Im NMR-Spektrum (Registrierbereich 1000) war deutlich die verminderte Abschirmung der Ringprotonen durch die elektronenziehenden Nitrogruppen zu erkennen. Die gleichwertigen 3 Protonen des 3,5-Dinitrobenzoyl-Restes bildeten bei 9,2 ppm ein Singulett, während die Ringprotonen des zweiten aromatischen Systems bei 7,0 bis 7,4 ppm in Resonanz traten. Das Resonanzsignal der Hydroxylgruppe trat nicht mehr auf.

Zur Identifizierung der bereits bekannten Doppelbindung in der Seitenkette wurde Xanthorrhizol mit einem 10 % Palladium/Kohle-Katalysator quantitativ hydriert. Dabei ergab sich eine weitgehende Übereinstimmung zwischen theoretischem und praktischem Verbrauch an Wasserstoff für eine isolierte Doppelbindung im Molekül, so daß diese damit als gesichert angesehen werden konnte. Im NMR-Spektrum konnte die völlige Hydrierung in der Seitenkette durch das Fehlen des Multipletts bei 5,1 ppm und

die Verschiebung der Methylsignale nachgewiesen werden.

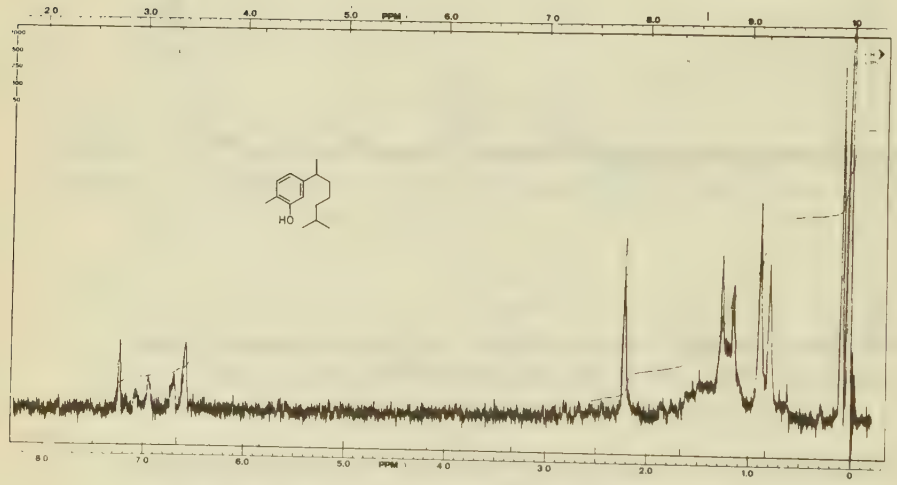


Abb. 20

NMR-Spektrum von hydriertem Xanthorrhizol, aufgenommen in $CDCl_3$ bei 60 MHz

Zu dem gleichen Ergebnis kamen wir bei der Hydrierung des Methyläthers von Xanthorrhizol.

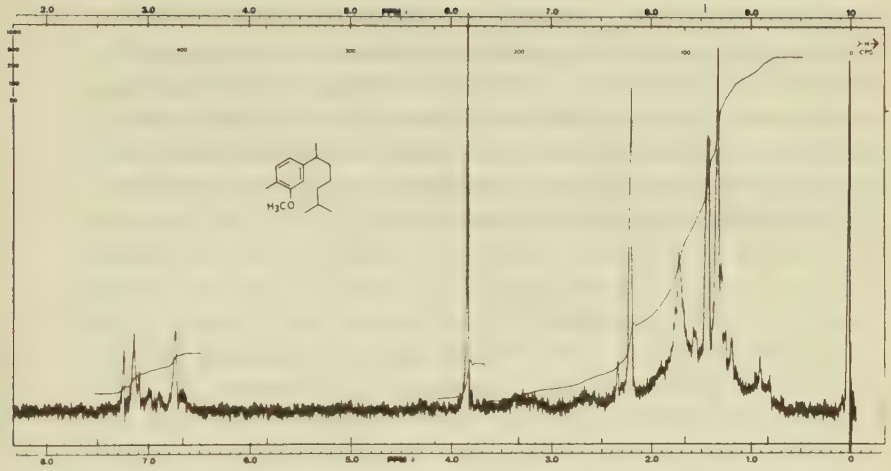


Abb. 21

NMR-Spektrum von hydriertem Xanthorrhizol-methyläther, aufgenommen in $CDCl_3$ bei 60 MHz

2.4. Aufstellung einer vorläufigen Strukturformel für Xanthorrhizol

Die Ergebnisse der UV-, NMR-, IR- und Massenspektroskopie sowie der Methylierung, Benzoylierung und Hydrierung ließen sich in folgenden Überlegungen zusammenfassen:

1. Die Verbindung besaß einen aromatischen Ring mit 1,2,4-Substitution, der mit einer Hydroxylgruppe, die in Para-Stellung keinen Substituenten aufwies, und einer Methylgruppe besetzt war.
2. Am Aromaten befand sich eine aliphatische Seitenkette mit drei Methylgruppen, von denen zwei zu einer Isopropylengruppe gehörten.
3. In der Seitenkette befand sich eine isolierte Doppelbindung.

Die Anzahl von 15 C-Atomen im Molekül ließ uns in Übereinstimmung mit den bisherigen Erkenntnissen für Xanthorrhizol die Struktur eines phenolischen, monozyklischen Sesquiterpens annehmen. Damit ließ sich gleichzeitig auf Grund des möglichen Biosyntheseweges über Farnesylpyrophosphat die Stellung der vier insgesamt vorhandenen Methylgruppen wahrscheinlich machen, so daß wir zunächst folgende Formel aufstellen konnten:

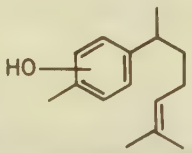


Abb. 22

Vorläufige Strukturformel für Xanthorrhizol

Nachdem die para-Stellung der aromatischen Methylgruppe zur Anknüpfungsstelle der Seitenkette geklärt war, versuchten wir die Position der Hydroxylgruppe festzulegen. Aus dem NMR- und IR-Spektrum war ein eindeutiger Nachweis für ihre Stellung nicht möglich.
Wir versuchten daher, durch oxydativen Abbau von Verbindungen mit ähnlich substituierten aromatischen Ringen zu einfacher gebauten Carbonsäuren zu gelangen, die wir dann mit den entsprechenden Abbauprodukten von Xanthorrhizol vergleichen konnten.

3. Oxydativer Abbau von Xanthorrhizol und Vergleich mit den Abbauprodukten von Carvacrol und Thymol

Bereits bei der Behandlung von Xanthorrhizol mit Sprühreagenzien für Phenole war uns aufgefallen, daß sich mit äthanolischer Eisen-III-chlorid-Lösung ähnlich wie bei Thymol keine Anfärbung erzielen ließ. Außerdem stellten wir Übereinstimmung von Carvacrol, Thymol und Xanthorrhizol beim Verhalten gegenüber Diazomethan bei der Methylierung fest. Thymol und Carvacrol enthalten in ihrem Grundgerüst die beiden möglichen Stellungen der

Hydroxylgruppe in einem trisubstituierten Aromaten, d.h. in Ortho- und Metastellung zur Methylgruppe. Diese steht wie bei Xanthorrhizol in beiden Fällen in Parastellung zu einer Isopropyl-Gruppierung.
Diese Erkenntnisse veranlaßten uns, die oxydativen Abbauprodukte von Xanthorrhizol, Carvacrol und Thymol in Form der entsprechenden Carbonsäuren miteinander zu vergleichen. Zunächst wurden die drei phenolischen Verbindungen mit Dimethylsulfat methyliert, da sich Phenole mit Seitenketten nur unter Schutz der Hydroxylgruppe mit Oxydationsmitteln wie Salpetersäure und Kaliumpermanganat oxydieren lassen (Weygandt-Hilgetag, 1964). Die in diesem Zusammenhang von Brieskorn (Brieskorn, 1969) aufgestellte Theorie, daß sich allein Thymol wegen der sterischen Behinderung der Hydroxylgruppe durch die in Orthostellung befindliche Isopropylgruppe nicht mit dem relativ schwachen Methylierungsmittel Diazomethan umsetzen lasse, konnten wir insofern nicht übernehmen, da sich nach unseren Versuchen weder Thymol noch Carvacrol und Xanthorrhizol auf diesem Wege methylieren ließen.
Bei der Auswahl des Oxydationsmittels stellten wir in Vorversuchen fest, daß die Oxydation von Carvacrol und Thymol mit Kaliumpermanganat als Endprodukt sofort Methoxyterephthalsäure lieferte, so daß eine Unterscheidung beider Substanzen nicht mehr möglich war. Dagegen entstanden bei Verwendung von verdünnter Salpetersäure, die bei gleichzeitiger Anwesenheit von Isopropyl- und Methylgruppe am Aromaten in Parastellung nur die verzweigte Gruppe angreift (Leeds, 1881), partiell oxydierte Produkte.

3.1. Oxydation von Thymolmethyläther mit verdünnter Salpetersäure

Wir erhitzten zunächst Thymolmethyläther mit verdünnter Salpetersäure zwei Stunden lang und untersuchten das Reaktionsgemisch dünnschichtchromatographisch. Wir konnten eine neu entstandene Verbindung feststellen, die bereits aus dem Reaktionsgemisch auskristallisierte. Zur voll-

ständigen Umsetzung erhitzten wir insgesamt acht Stunden lang und erhielten auf diese Weise feine Nadeln von 5-Nitro-2-methoxy-4-methylbenzoesäure mit dem Schmelzpunkt von 173°. Die Verbindung konnte durch IR-Spektrum und Übereinstimmung mit dem in der Literatur angegebenen Schmelzpunkt (173-175°) bestätigt werden. Wir fanden später, daß die Substanz bereits 1879 von Paterno (Paterno u. Canzoner, 1879) durch mehrstündiges Kochen von Thymolmethyläther mit verdünnter Salpetersäure dargestellt worden war.

3.2. Oxydation von Carvacrolmethyläther mit verdünnter Salpetersäure

Aus Carvacrolmethyläther entstand nach zweistündigem Erhitzen mit verdünnter Salpetersäure eine bisher auf diesem Wege noch nicht dargestellte Verbindung, die 3-Methoxy-4-Methylbenzoesäure, deren Schmelzpunkt von 156° mit dem der von Canzoneri (Canzoneri, 1880) aus 3-Methoxy-1,5-Dimethylbenzol durch Oxydation mit verdünnter Salpetersäure gefundenen Substanz identisch war. Die Identität konnte durch IR- und NMR-Spektrum belegt werden.
Dagegen erhielten wir nach achtstündigem Kochen von Carvacrolmethyläther in kristalliner Form Methoxyterephthalsäure vom Schmelzpunkt 276°. Diese Verbindung war von Paterno auf dem gleichen Wege aus Carvacrolmethyläther dargestellt worden (Paterno u. Canzoneri, 1879).
Nachdem wir auf diese Weise aus Thymol und Carvacrol bei gleichen Reaktionsbedingungen zu unterschiedlichen Abbauprodukten gelangt waren, untersuchten wir die Oxydationsprodukte von Xanthorrhizolmethyläther.

3.3. Oxydation von Xanthorrhizolmethyläther mit verdünnter Salpetersäure

Da uns von Xanthorrhizolmethyläther bedeutend geringere Substanzmengen zur Verfügung standen, wurden die gefundenen Vergleichssubstanzen zunächst dünnschichtchromatographisch mit dem jeweils auf zwei und acht Stunden erhitzten Reaktionsgemisch verglichen. Wir konnten feststellen, daß sich

auch bei Xanthorrhizolmethyläther nach zweistündigem Erhitzen ein Fleck mit dem gleichen Rf-Wert wie bei dem der bei Carvacrolmethyläther gefundenen 3-Methoxy-4-methylbenzoesäure bildete, während nach achtstündigem Erhitzen Methoxyterephthalsäure nachgewiesen werden konnte (siehe Tabelle 2 und Abb. 23).

	Carvacrol-methyläther		Xanthorrhizol-methyläther		Thymol-methyläther	
	2 Std.	8 Std.	2 Std.	8 Std.	2 Std.	8 Std.
3-Methoxy-4-methylbenzoesäure (Rf = 0,54)	+	-	+	-	-	-
Methoxyterephthalsäure (Rf = 0,29)	-	+	-	+	-	-
5-Nitro-2-Methoxy-4-Methylbenzoesäure (Rf = 0,36)	-	-	-	-	+	+

Tabelle 2

Vergleich der Abbauprodukte von Carvacrol-, Xanthorrhizol- und Thymolmethyläther im System Benzol/Dioxan/Eisessig (90:25:4) auf Kieselgel

Während es gelang, aus Thymol- und Carvacrolmethyläther durch Ausschütteln der Reaktionsgemische mit Äther und anschließende Chromatographie über Kieselgelsäulen die Vergleichssubstanzen zu isolieren, konnte aus Xanthorrhizolmethyläther zwar Methoxyterephthalsäure kristallin dargestellt werden, während der Nachweis von 3-Methoxy-4-Methylbenzoesäure nur chromatographisch erbracht werden konnte.
Durch die Übereinstimmung der Oxydationsprodukte von Carvacrol und Xanthorrhizol bestätigte sich unsere Vermutung,

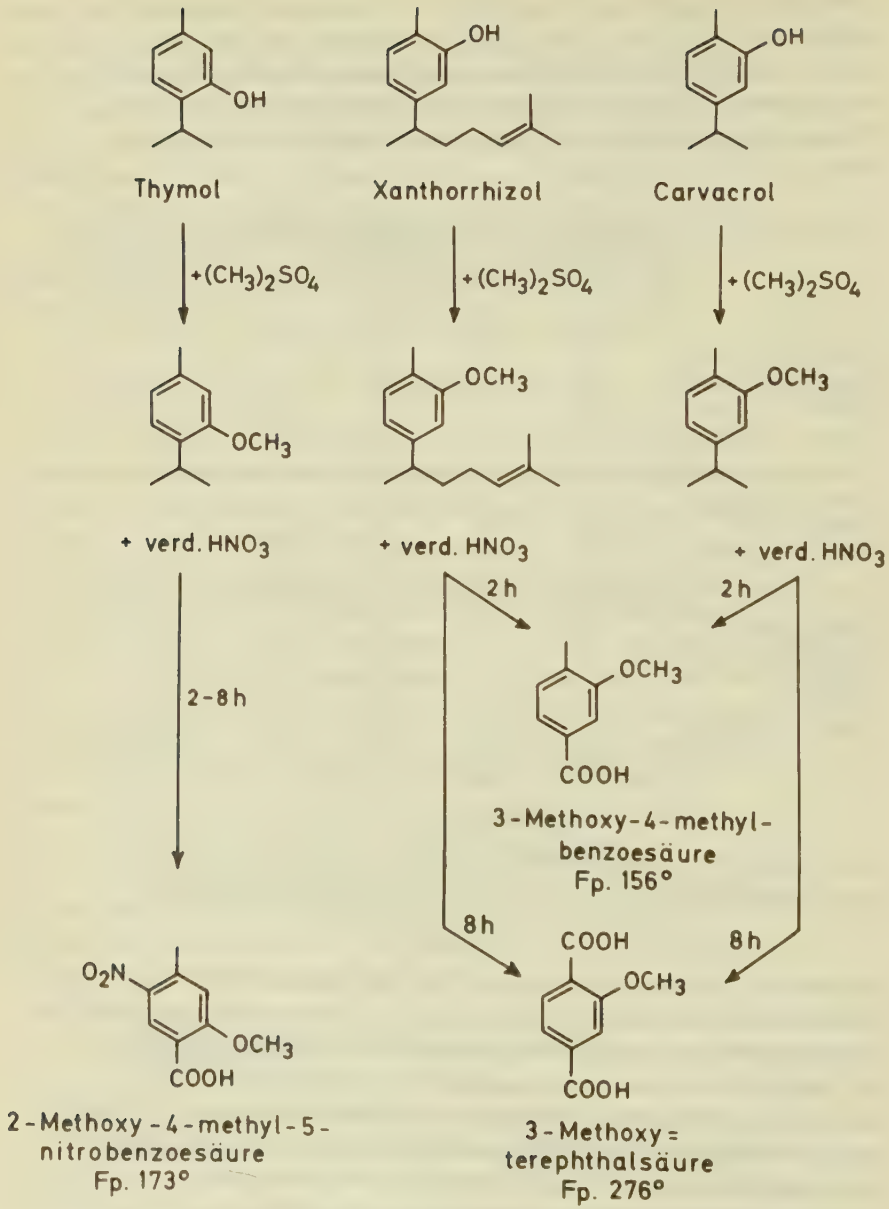


Abb. 23

Vergleich der Abbauprodukte von Thymol, Xanthorrhizol und Carvacrol nach der Oxydation mit verdünnter Salpetersäure

daß die phenolische Hydroxylgruppe gemäß dem Substitutionsmuster von Carvacrol in Orthostellung zur Methylgruppe stehen mußte. Zum endgültigen Beweis versuchten wir, durch Ringschluß zwischen dem Benzolring und der Seitenkette die 1,2,4-Substitution zu klären.

4. Nachweis des Substitutionsmusters von Xanthorrhizol durch Ringschluß

Die Kenntnis von der Lage der Doppelbindung am Ende der Seitenkette veranlaßte uns, durch Ringschluß einen zweiten aliphatischen Ring in das Molekül einzuführen. Durch mehrstündiges Kochen mit p-Toluolsulfonsäure in wasserfreiem Benzol konnten wir dünnschichtchromatographisch eine neue Substanz neben der Ausgangssubstanz nachweisen, die sich mit Gibbs Reagenz bereits ohne Bedampfung mit konzentriertem Ammoniak violett anzufärben begann.
Diese Reaktion bewies uns, daß die phenolische Hydroxylgruppe bei unsubstituierter Parastellung erhalten geblieben war. Nach mehrfacher Reinigung durch Chromatographie über eine Kieselgel-Säule erhielten wir ein farbloses Öl. Das Reaktionsprodukt erwies sich nach dem NMR-Spektrum als Gemisch mehrerer isomerer Substanzen. Theoretisch war das Auftreten von zwei Struktur-Isomeren, dem 7-Hydroxy- und dem 5-Hydroxy-Calamenen, zu erwarten. Diese sollten jeweils in zwei diastereoisomeren Formen auftreten, da die Isopropyl-Gruppe am neu gebildeten asymmetrischen C-Atom in cis- oder trans-Stellung zur Methylgruppe vorliegen konnte. Von den Struktur-Isomeren war das 7-Hydroxy-Calamenen bereits von Rowe und Toda (1969) mit Angaben über das NMR-Spektrum beschrieben worden. Durch mehrfache chromatographische Reinigung gelang es uns, das zweite Struktur-Isomere, das 5-Hydroxy-Calamenen, zu isolieren. Das NMR-Spektrum (Abb. 24) zeigte im Aromatenbereich bei 6,39 und 6,73 ppm ein AB-System. Die Aufspaltung von etwa 8 Hz entsprach dem Wert der Kopplungskonstante von ortho-ständigen Protonen in aromatischen Verbindungen. Durch das Verschwinden des Multipletts bei 5,1 ppm zeigte es sich, daß die Doppelbindung nicht mehr vorhanden sein

konnte. Die Anwesenheit der Hydroxy-Gruppe ergab sich aus dem Signal bei 4,54 ppm, das nach Austausch mit Deuteriumoxyd verschwunden war.
Die Isopropyl-Gruppe erschien als Signal bei 1,24 ppm in Form überlagerter Dubletts. Daneben fanden wir als Satelliten-Peaks ein analoges, aber wesentlich schwächeres Signal bei 1,33 ppm, das der Isopropyl-Gruppe des zweiten Diastereoisomeren zuzuordnen war. Die Messung der optischen Drehung im Polarimeter ergab eine spezifische Drehung der Verbindung von $[\alpha]_D^{20^\circ} = -84{,}5^\circ$ gegenüber einer spezifischen Drehung bei Xanthorrhizol von $[\alpha]_D^{20^\circ} = -52{,}5^\circ$. Daraus ergab sich, daß hier ein Gemisch zweier Diastereoisomerer vorlag, von denen aber eins deutlich im Überschuß vorhanden war.

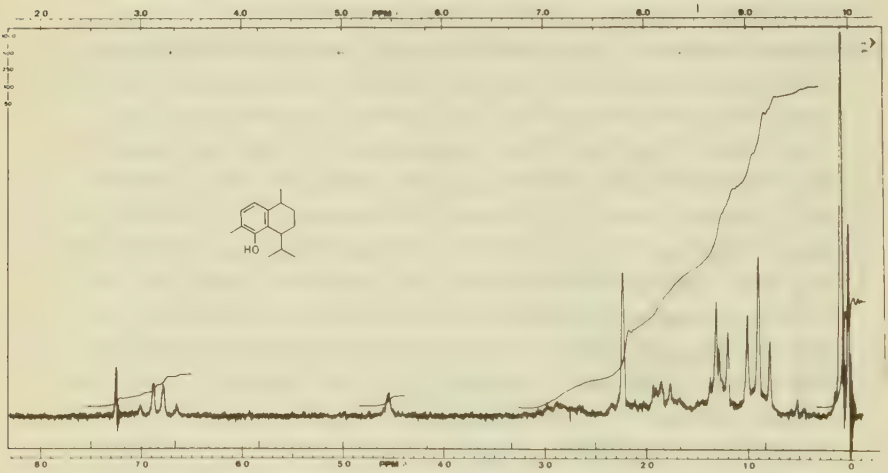


Abb. 24

NMR-Spektrum von cyclisiertem Xanthorrhizol, aufgenommen in $CDCl_3$ bei 60 MHz

Aufschluß über die Cyclisierung brachte auch das Massenspektrum, aus dem hervorging, daß das Molekulargewicht und damit die Anzahl der C-Atome konstant geblieben war. Im Spektrum (Abb. 25) erschien der Basis-Peak mit m/e 175.

Aus dem Schema der Fragmentierung ließ sich erkennen, daß dieses Bruchstück Tetralin-Struktur besaß. Damit war der Ringschluß unter Aufhebung der Doppelbindung bewiesen.
Das Molekülion m/e 218 wurde zunächst an den beiden tertiären C-Atomen der C_7-C_{13}-Bindung aufgespalten. Dabei entstanden das Isopropyl-Bruchstück m/e 43 oder das Basis-Ion m/e 175. Die Aufspaltung dieses Bruchstückes ließ sich durch mehrere aufeinanderfolgende Schritte deuten.
Dabei führte ein erster Schritt unter Übereinstimmung mit einer Retro-Diels-Alder-Reaktion durch Eliminierung einer Äthylengruppe zu dem Bruchstück m/e 147. Damit war ein deutlicher Unterschied zum Massenspektrum des nicht cyclisierten Xanthorrhizol gegeben, da dort die Bruchstückbildung durch eine McLafferty-Umlagerung erfolgt war.
Durch weitere Abspaltung eines Wasserstoffmoleküls gelangten wir zum Bruchstück m/e 145.
Ein anderer Weg wurde durch die Abspaltung einer C_3H_4-Einheit aus dem Basision m/e 175 eröffnet, der zum Bruchstück m/e 135 führte, aus dem sich durch Eliminierung einer Methylengruppe das Bruchstück m/e 121 bildete.

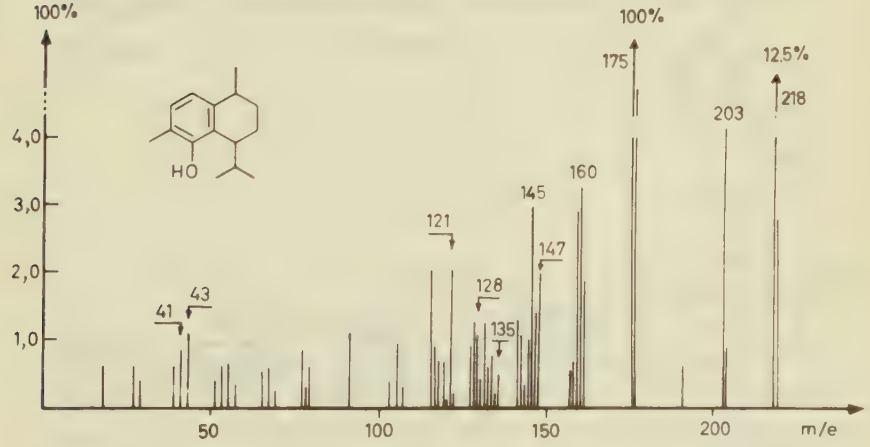


Abb. 25
Massenspektrum von cyclisiertem Xanthorrhizol

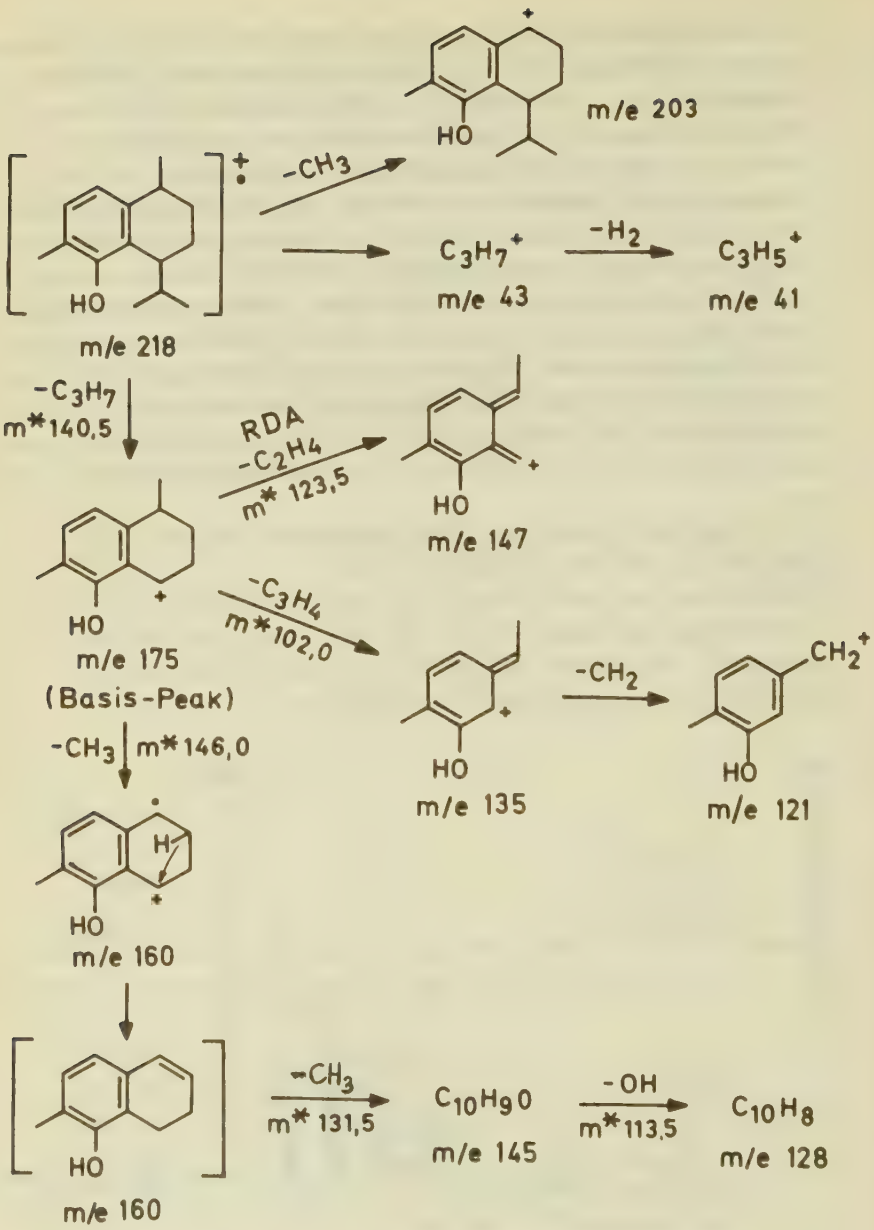


Abb. 26

Schema der Bruchstückbildung im Massenspektrum von cyclisiertem Xanthorrhizol

Durch Abspaltung der am Basision m/e 175 noch vorhandenen Methylgruppe in Allylstellung ließ sich das Bruchstück m/e 160 deuten, das durch weitere Eliminierung einer Methylgruppe zum Bruchstück m/e 145 und der daraus möglichen Abspaltung einer Hydroxylgruppe zum Bruchstück m/e 128 weiterführte.
Die aufgeführten Variationen der Bruchstückbildung ließen sich überwiegend durch Berechnung aus den metastabilen Peaks herleiten. Eine zusätzliche Bestätigung fanden wir in einer Arbeit von Hayashi (1967), in der die Bruchstückbildung von Calamenen, das sich von unserer Verbindung nur durch die fehlende Hydroxylgruppe unterscheidet, beschrieben ist. Die dort angegebenen Fragmente stimmten fast vollständig mit den von uns ermittelten überein.
Da das ursprünglich vorhandene dritte aromatische Ringproton beim Ringschluß eliminiert worden war und die Para-Stellung von Methylgruppe und Seitenkette durch Abbau zu Methoxyterephthalsäure nachgewiesen war, blieb bei Anwesenheit von 2 benachbarten Ringprotonen für die Hydroxylgruppe nur die Ortho-Stellung zur Methylgruppe als einzig mögliche Position übrig.
Die Struktur für das cyclisierte Xanthorrhizol mußte nach diesen Untersuchungen folgendermaßen aussehen:

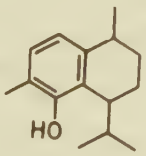


Abb. 27

Cyclisiertes Xanthorrhizol

Damit war es gleichzeitig möglich, die endgültige Struktur des phenolischen Sesquiterpens Xanthorrhizol festzulegen, wobei die Stereochemie offen bleiben mußte. Die Ergebnisse der Cyclisierung und des oxydativen Abbaues ergaben entsprechend dem Substitutionsmuster von Carvacrol eine 1,2,4-Trisubstitution, wobei die Hydroxylgruppe in Ortho-

Stellung zur Methylgruppe lag.

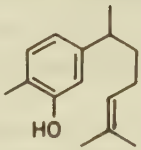


Abb. 28

Endgültige Strukturformel für Xanthorrhizol

5. Pharmakologische Untersuchung auf choleretische Wirkung von Xanthorrhizol

Die Frage nach dem gallewirksamen Prinzip ließ sich auch durch die von uns aufgefundene Verbindung nicht klären, da die pharmakologische Prüfung+) von Xanthorrhizol an Sprague-Dawley-Ratten keine nennenswerte choleretische Wirkung ergab.

+) Wir danken der Firma A. Klinge, München, insbesondere den Herren Dr. Haase und Dr. Hofrichter, für die sorgfältige tierexperimentelle Prüfung der Substanz.

B. Experimenteller Teil

Allgemeines

Zur Untersuchung gelangten die getrockneten Wurzelstöcke von Curcuma xanthorrhiza Roxb. und Curcuma domestica L. (Zingiberaceae). Curcuma xanthorrhiza Roxb. wurde in Form der aus dem Handel bezogenen gepulverten Droge der Firma Caesar und Loretz, Hamburg, untersucht, während die Wurzelstöcke von Curcuma domestica L. jeweils frisch gepulvert wurden.
Die gepulvert bezogene Droge von Curcuma xanthorrhiza Roxb. wurde identifiziert

a) durch Dünnschichtchromatographie des Methanol-Extraktes auf Abwesenheit von p,p'-Dihydroxydicinnamoylmethan, das nur in Curcuma domestica L. enthalten ist. (Luckner, 1967)

b) durch Dünnschichtchromatographie des Methylenchlorid-Extraktes nach eigenen Untersuchungen. Fließmittel: Benzol/Chloroform/Methanol (200:100:3) (Winkler, 1959). Adsorptionsschicht: Kieselgel HF 254 "Merck". Durch Besprühen der DC-Platte mit Gibbs Reagenz und Bedampfung mit konz. NH_3 entstand im mittleren Rf-Bereich (Rf = 0,53) ein hellblauer Fleck, der als phenolisches Sesquiterpen $C_{15}H_{22}O$ identifiziert und von uns Xanthorrhizol benannt wurde. Diese Verbindung ließ sich bei Curcuma domestica L. nicht nachweisen.

Die Droge wurde durch zwölfstündiges Kochen bei 50° im Soxhlet-Extraktor mit Methylenchlorid erschöpfend extrahiert.
Für die Bereitstellung größerer Extraktoren und entsprechender Mengen Lösungsmittel bin ich der Firma Schering AG, Werk Berlin-Charlottenburg (Abteilungsleiter: Dr. R. Müller), zu Dank verpflichtet.
Zur Dünnschichtchromatographie wurden 20 x 20 cm große Glasplatten verwendet. Beschichtet wurden die Platten

mit dem Streichgerät nach Stahl (Fa. Desaga). Die Schichtdicke des Adsorptionsmittels betrug ca. 0,35 mm. Verwendet wurde Kieselgel HF 254 "Merck". Die Platten wurden 1 Std. lang an der Luft getrocknet und anschließend 1/2 Std. lang im Trockenschrank bei 110° aktiviert.
Zur Säulenchromatographie kam zur Anwendung

a) Kieselgel "Merck" Korngröße 0,02-0,50 mm
b) Aluminiumoxyd neutral "Merck".

Die katalytische Hydrierung wurde vorgenommen im Hydriergerät nach Prof. Grewe, Typ MHYD.
Die IR-Spektren wurden mit dem Leitz-Unicam-Spektralphotometer SP 200 G aufgenommen. Die Substanzen wurden als KBr-Preßling gemessen.
Die NMR-Spektren wurden im Pharmazeutischen Institut der Freien Universität Berlin mit dem Varian-A60-Kernresonanzspektrometer (Leitung: Dr. K. Rehse) freundlicherweise aufgenommen. Als innerer Standard diente Tetramethylsilan.
Die UV-Spektren wurden mit einem Zeiss-Spektralphotometer PM Q II gemessen. Zur Messung gelangten Lösungen der Substanzen in Methanol (Uvasol) in Quarzküvetten von 1,000 cm Schichtdicke.
Die Massenspektren wurden mir freundlicherweise von der Physikalisch-Chemischen Abteilung der Firma Schering AG Berlin (Leitung: Dr. G. Schulz) mit einem Atlas-CH4-Massenspektrometer aufgenommen.
Die Messung der optischen Drehung erfolgte in einem lichtelektrischen Präzisionspolarimeter LEP A2 Carl Zeiss.
Zur Bestimmung der Schmelzpunkte wurde ein Kofler-Heiztisch-Mikroskop verwendet.
Die Mikroanalysen wurden angefertigt im Mikroanalytischen Laboratorium Ilse Beetz, 864 Kronach.
Zum Einengen der Lösungen wurde ein Rotationsverdampfer der Firma Büchi verwendet.
Konzentrations- und Verhältnisangaben bei Laufmitteln zur Säulen- und Dünnschichtchromatographie beziehen sich auf Volumina (v/v).

Als Sprühreagenzien kamen zur Anwendung:

a) Gibbs Reagenz: 0,1 % Lösung von Dichlorchinonchlorimid "Merck" in Äthanol.
b) Anisaldehyd-Schwefelsäure: 0,5 g Anisaldehyd, 50 ml Essigsäure und 1 ml konz. Schwefelsäure werden vorsichtig gemischt.
c) Echtblau B-Lösung: 0,5 % Echtblau B-Lösung in Wasser wird mit 0,1 n KOH versetzt.
d) $FeCl_3$-Lösung: 2 % methanolische Eisen-III-chlorid-Lösung.
e) Antimon-III-chlorid-Lösung: 25 % $SbCl_3$-Lösung in Chloroform.

1. Isolierung von Xanthorrhizol

1.1. Extraktion der Droge

In einem Soxhlet-Extraktor wurden 600 g fein gepulverte Droge von Curcuma xanthorrhiza Roxb. 12 Std. lang mit 1,5 l Methylenchlorid bei etwa 50° erschöpfend ausgezogen, bis sich das Lösungsmittel nur noch schwach gelblich färbte. Der Methylenchlorid-Extrakt wurde bei etwa 50° am Vakuum-Rotationsverdampfer eingeengt, bis kein weiteres Lösungsmittel mehr überging. Es entstand ein dünnflüssiger, stark färbender, gelblicher, öliger Rückstand von aromatischem Geruch. Die Ausbeute betrug 75,0 g öliger Rückstand, das sind 12,5 % der eingesetzten Drogenmenge.
Zur weiteren Verarbeitung des Rückstandes der Methylenchlorid-Extraktion wurden zwei verschiedene Verfahren angewendet, die etwa zur gleichen Ausbeute an reinem Xanthorrhizol führten

1.2. Wasserdampfdestillation des Methylenchlorid-Extraktes

100 g des öligen Rückstandes wurden mit wenig heißem Wasser versetzt und etwa 5 Std. lang einer Wasserdampfdestillation unterworfen. Das wäßrige Destillat wurde mehrfach mit Äther ausgeschüttelt und dieser mit Na_2SO_4 getrocknet. Nach Abziehen des Äthers am Vakuum-Rotationsverdampfer bildete sich ein hellgelbes, klares Öl. Die Ausbeute betrug 50 g.

Von diesem Öl wurden je 20 g über eine 400 g Kieselgel-Säule gegeben. Als Eluierungsmittel wurde verwendet eine Mischung aus Benzol/Chloroform/Methanol (200:100:3).
Aus einer Fraktion dieser Säule wurde durch Gibbs Reagenz auf einer DC-Platte das gesuchte Xanthorrhizol nachgewiesen und durch Einengen dieser Fraktion als fast farbloses, klares Öl gewonnen.
Die Ausbeute betrug 3,9 g reines Xanthorrhizol, das sind bezogen auf 100 g Ol.Curcumae 19,5 %.

1.3. Trennung des Methylenchlorid-Extraktes über eine Aluminiumoxyd-Säule

100 g Methylenchlorid-Extrakt wurde in Benzol gelöst und der unlösliche Rückstand abfiltriert. Das Filtrat wurde kurz mit Aluminiumoxyd alkalisch "Merck" digeriert, wobei es sich kräftig rot färbte. Danach wurde erneut abfiltriert und die Lösung auf ein geringes Volumen eingeengt. Diese Lösung wurde durch Säulenchromatographie über Aluminiumoxyd weiter aufgetrennt. Dazu wurde ein Chromatographie-Rohr (Durchmesser 7,5 cm) mit einer Aufschwemmung von 400 g Aluminiumoxyd neutral "Merck" in Benzol beschickt. Die Schichthöhe betrug nach dem Absitzen 35 cm. Auf diese Säule wurde die Lösung gegeben und nacheinander mit folgenden Systemen eluiert:

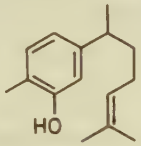
a) mit einer genügenden Menge reinem Benzol zur Entfernung der mit der Fließmittelfront laufenden Begleitstoffe. Der Vorlauf betrug 600 ml Benzol
b) mit einer Mischung von Benzol und 1 % Äthanol zur Eluierung von nicht ganz reinem Xanthorrhizol
c) mit einer Mischung von Benzol und 2 % Äthanol zum Nachwaschen der Säule.

Die Eluate wurden in Fraktionen zu je 50 ml aufgefangen und dünnschichtchromatographisch geprüft.
Die mit dem unter b) genannten System gewonnenen Fraktionen (unreines Xanthorrhizol) wurden eingeengt und in Anteilen von je 20 g auf eine 100,0 Kieselgel-Säule gegeben. Diese wurde dann mit dem oben im Anschluß an die

Wasserdampfdestillation verwendeten System eluiert. Die Ausbeute betrug für 100 g Methylenchlorid-Extrakt 10,85 g reines Xanthorrhizol, das entspricht einem Gehalt an Xanthorrhizol in Ol.Curcumae von 21,6 %.

2. Charakterisierung von Xanthorrhizol

2.1. Eigenschaften von Xanthorrhizol



Xanthorrhizol bildet ein fast farbloses, klares Öl, das nicht kristallin erhalten werden konnte. Beim Versuch der Vakuumdestillation tritt Zersetzung unter Verkohlungserscheinungen ein. Es löst sich in allen organischen Lösungsmitteln.

Elementaranalyse:

Berechnet für $C_{15}H_{22}O$ (218,34):

C 82,51 % H 10,16 %

Gefunden: C 81,98 % H 10,02 %

Molekulargewicht:

Bestimmung aus dem Massenspektrum: 218

UV-Spektrum:

λ_{max}: 276 nm

ε_{max}: 2232 l Mol^{-1} cm^{-1}

lg ε_{max}: 3,35

c = 1,4 $\cdot 10^{-2}$ g l^{-1} = 6,4 $\cdot 10^{-5}$ Mol in Methanol

IR-Spektrum:

3650 w, 3430 s, 3030 w, 2960 s, 2860 s, 1610 m, 1580 s, 1500 s, 1440 s, 1420 s, 1370 s, 1300 m, 1250 s, 1175 m, 1120 s, 990 m, 935 m, 860 m, 820 s, 755 w, 720 w cm^{-1}

c = 1,5 mg / 200 mg KBr

(s = starke, m = mittelstarke, w = schwache Bande)

Abbildung des Spektrums siehe Seite 38

NMR-Spektrum:

Aufgenommen in $CDCl_3$ bei 60 MHz; Spektrumamplitude 32; Integralamplitude 25 und 80; Registrierbereich 500.

Abbildung des Spektrums siehe Seite 37

Bereich:

1,2 ppm ($-CH_3$); 1,55 und 1,65 ppm ($2-CH_3$);
1,3 - 2,0 ppm (6 Protonen); 2,2 ppm ($-CH_3$);
4,8 ppm (-CH); 6,6 - 7,1 ppm (3 Protonen)

Massenspektrum:

Bruchstücke: m/e 218, m/e 203, m/e 175, m/e 161,
m/e 148, m/e 136, m/e 135, m/e 121,
m/e 69, m/e 67
Metastabile Peaks: m^* = 108

Spezifische Drehung:

$$[\alpha]_D^{20^\circ} = (-)\ 52{,}5^\circ$$

Mit Gibbs Reagenz besprüht und anschließender Bedampfung mit konz. Ammoniak ergibt Xanthorrhizol eine hellblaue Färbung.
Die Reaktion nach Lustgarten bildet eine hellrote Färbung.
Mit alkalischer Echtblausalz B-Lösung erscheint eine rötliche, später in gelb-orange übergehende Färbung.
Mit 25 % Antimon-III-chlorid-Lösung in Chloroform färbt sich Xanthorrhizol gelb.
Mit 2 % äthanolischer Eisen-III-chlorid-Lösung trat keine Farbreaktion ein.

2.2. Dünnschichtchromatographie der Methylenchlorid- und Methanol-Extrakte von Curcuma xanthorrhiza Roxb. und Curcuma domestica L. zum Identitätsnachweis

2.2.1. Prüfung auf Diferuloylmethanderivate

Die Prüfung erfolgte nach der von M. Luckner, O. Bessler und R. Luckner angegebenen Methode auf p,p'-Dihydroxydicinnamoylmethan, das im Methanol-Extrakt von Curcuma domestica L. nachzuweisen war, jedoch bei Curcuma xanthor-

rhiza Roxb. fehlen mußte.
Je 100 mg gepulverte Droge der beiden Curcuma-Arten wurden mit 5 ml Methanol versetzt. Die Mischungen wurden 1 Minute lang im Sieden gehalten und nach dem Abkühlen filtriert. 14-16 µl der Filtrate wurden auf eine Kieselgelplatte aufgetragen. Als Vergleichslösung wurden 3 mg Curcumin in 30 ml Chloroform gelöst und 9-10 µl der Lösung aufgetragen. Als Fließmittelsystem diente Chloroform/Eisessig (90:10). Die Laufstrecke betrug 12 cm. Die DC-Platte wurde im Warmluftstrom getrocknet, bis der Geruch nach Chloroform verschwunden war.
Die DC-Platte wurde mit einer Mischung von Essigsäureanhydrid/Schwefelsäure (9:1) besprüht und im sichtbaren Licht betrachtet.

	Curcuma domestica	Curcuma xanthorrhiza
Diferuloylmethan	0,75	0,75
p-Hydroxycinnamoylmethan	0,58	0,58
p,p'-Dihydroxycinnamoylmethan	0,32	----
Rf-Werte im System Chloroform/Eisessig (90:10)		

Tabelle 3

Vergleich der Diferuloylmethanfarbstoffe der Methanol-Extrakte von Curcuma domestica und Curcuma xanthorrhiza

Der rotbraune bis rotviolette Fleck des Curcumins lag im oberen Rf-Bereich und entsprach dem Diferuloylmethanfleck der Drogen. Das Chromatogramm ließ außerdem im mittleren Rf-Bereich einen rotvioletten Fleck von p-Hydroxydicinnamoylmethan erkennen.

Bei der Betrachtung im UV-Licht (Wellenlänge 360 nm) erschien nur bei Curcuma domestica L. im untersten Rf-Bereich der ziegelrot fluoreszierende Fleck von p,p'-Dihydroxycinnamoylmethan, während er bei Curcuma xanthorrhiza Roxb. fehlte.

2.2.2. Prüfung der Methanol- und Methylenchlorid-Extrakte beider Curcuma-Arten auf Anwesenheit von Xanthorrhizol

Je 100 mg gepulverte Droge beider Curcuma-Arten wurden mit 5 ml Methylenchlorid versetzt und das Gemisch 1 Min. lang am Sieden gehalten. Nach dem Abkühlen wurde das Filtrat in einer Menge von je 10 µl auf eine Kieselgelplatte aufgetragen und zum Vergleich daneben je 10 µl der Methanolextrakte beider Drogen.
Außerdem wurden die ätherischen Öle beider Curcuma-Arten, die zuvor aus einer kleinen Menge frisch gepulverter Droge durch Wasserdampf-Destillation hergestellt worden waren, aufgetragen.
Als Fließmittel wurden zwei Systeme gewählt:

(1) Benzol/Chloroform/Methanol (200:100:3)
(2) n-Hexan/Benzol/Methanol (90:10:1)

Beide Systeme zeigten eine gute Auftrennung der Inhaltsstoffe bereits im UV-Licht. Die Identifizierung von Xanthorrhizol erfolgte durch Besprühen der DC-Platten mit einer 1%igen äthanolischen Lösung von 2,6-Dichlorchinonchlorimid und anschließender Bedampfung mit konz. Ammoniak.
Dabei zeigte Xanthorrhizol einen deutlich sichtbaren, hellblauen Fleck, der später nachdunkelte und violett wurde.
Xanthorrhizol ließ sich nur in den Extrakten und im Öl von Curcuma xanthorrhiza Roxb. nachweisen. Die Rf-Werte in beiden Systemen ergeben sich aus der folgenden Tabelle 4.
Abbildung der Dünnschichtchromatogramme siehe Seite 67.

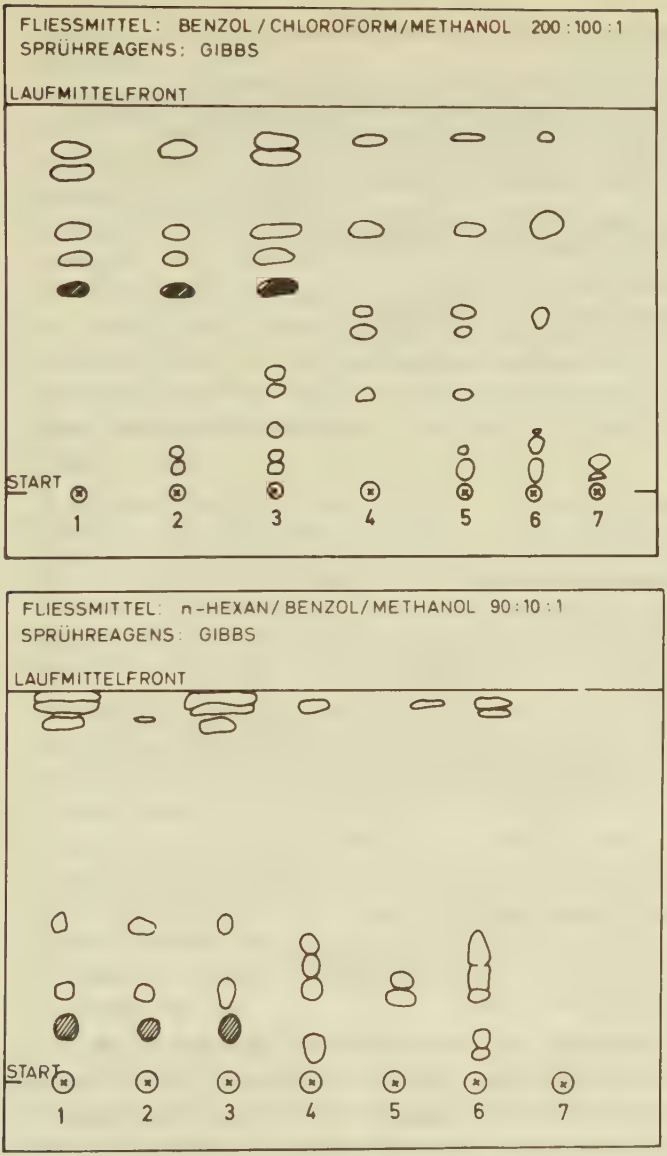


Abb. 29

Prüfung verschiedener Extrakte beider Curcuma-Arten auf Anwesenheit von Xanthorrhizol durch DC auf Kieselgelplatten

(Erläuterungen s. Seite 68)

Erläuterungen zu Abb. 29:

1 = Curcuma xanthorrhiza, Methanol-Extrakt
2 = Curcuma xanthorrhiza, Methylenchlorid-Extrakt
3 = Curcuma xanthorrhiza, ätherisches Öl
4 = Curcuma domestica, Methanol-Extrakt
5 = Curcuma domestica, Methylenchlorid-Extrakt
6 = Curcuma domestica, ätherisches Öl
7 = Curcumin/Chloroform
Schraffiert = Xanthorrhizol

	R_f-Werte im System	
	(1)	(2)
Methanol-Extrakt	0,53	0,13
Methylenchlorid-Extrakt	0,53	0,13
Ätherisches Öl	0,53	0,13

Tabelle 4

Rf-Werte von Xanthorrhizol in den Systemen
(1) Benzol/Chloroform/Methanol (200:100:3)
(2) n-Hexan/Benzol/Methanol (90:10:1)

2.3. Darstellung und Eigenschaften von Derivaten der Verbindung Xanthorrhizol

2.3.1. Methylierung von Xanthorrhizol

2.3.1.1. mit Diazomethan

2,14 g N-(Tolylsulfonyl-4-)-N-methyl-nitrosamid wurden in 30 ml wasserfreiem Äther gelöst. Die Lösung wurde eisgekühlt. Zu dieser Lösung wurden langsam 10 ml 4% methanolischer Kalilauge gegeben. Ein sich bildender schwacher Niederschlag wurde durch eine geringe Menge Methanol in Lösung gebracht. Nach 5 Min. wurde die ätherische Diazomethanlösung auf dem Wasserbad überdestilliert in eine eisgekühlte Vorlage, in

der sich 315 mg Xanthorrhizol in 25 ml wasserfreiem Äther befanden.
Das Reaktionsgemisch wurde zwei Tage lang bei -4° aufbewahrt. Danach wurde das Lösungsmittel abdestilliert und der Rückstand dünnschichtchromatographisch auf einer Kieselgel-Platte geprüft.
Fließmittel: Benzol/Chloroform/Methanol (200:100:3)
Laufhöhe: 14,5 cm
Es stellte sich heraus, daß Xanthorrhizol (Rf = 0,50) in nur sehr geringem Maße methyliert worden war. Der äußerst schwache Fleck des Methylierungsproduktes hatte den Rf-Wert 0,72.
Wegen der geringen Ausbeute war eine präparative Trennung nicht möglich.

2.3.1.2. mit Dimethylsulfat

2,5 g Xanthorrhizol wurden in 2,5 ml Äthanol gelöst und mit 2,8 g Dimethylsulfat unter Eiskühlung versetzt. Aus einem aufgesetzten Tropftrichter wurde unter ständigem Rühren eine Lösung von 1,3 g NaOH in 10 ml H_2O zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht stehen gelassen und dann unter Rückfluß eine halbe Stunde lang im siedenden Wasserbad erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde die wäßrige Lösung dreimal mit je 50 ml Äther ausgeschüttelt und der Ätherauszug mit Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde abdestilliert. Es entstand als Rückstand eine schwach gelbliche, ölige Flüssigkeit, die zunächst dünnschichtchromatographisch untersucht wurde.
Fließmittel: Benzol/Chloroform/Methanol (200:100:3)
Laufhöhe: 16 cm
Aus dem Chromatogramm ergab sich, daß offensichtlich eine Methylierung stattgefunden hatte. Über der Ausgangssubstanz (Rf = 0,49) lag mit dem Rf-Wert von 0,69 ein deutlich größerer Fleck, der sich nach dem Besprühen mit Gibbs Reagenz und Bedampfung mit konz. Ammoniak gelb färbte, während Xanthorrhizol die typische Blaufärbung ergab.

Der ölige Rückstand (2,3 g) wurde durch Säulenchromatographie an Kieselgel aufgetrennt. Dazu wurden 100 g Kieselgel in einem Gemisch von der Zusammensetzung des oben genannten Fließmittels auf ein Chromatographier-Rohr (Durchmesser 3,5 cm) gebracht. Das Eluat wurde in Fraktionen zu 10 ml aufgefangen und im gleichen Fließmittel erneut dünnschichtchromatographisch geprüft. Die einheitlichen Fraktionen, die den reinen Methyläther enthielten, wurden vereinigt und das Lösungsmittel abgedampft. Der Methyläther von Xanthorrhizol wurde als fast farbloses Öl gewonnen.
Die Ausbeute betrug 1,7 g.
Abbildung des IR- und NMR-Spektrums siehe Seite 42 u. 43.

IR-Spektrum:

2940 s, 2900 s, 2840 w, 1600 m, 1570 m, 1500 s, 1450 s, 1410 m, 1370 w, 1250 s, 1130 s, 1040 s, 990 w, 850 m, 810 m cm^{-1}

c = 1,3 mg / 200 mg KBr

(s = starke, m = mittelstarke, w = schwache Bande)

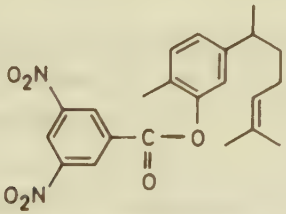
NMR-Spektrum:

Aufgenommen in $CDCl_3$ bei 60 MHz; Spektrumamplitude 20; Integralamplitude 50; Registrierbereich 500
Bereich:
1,1 ppm - 2,0 ppm (13 Protonen); 2,2 ppm ($-CH_3$); 3,8 ppm ($-OCH_3$); 6,5 ppm - 7,1 ppm (3 Protonen)

2.3.2. Benzoylierung von Xanthorrhizol

500 mg Xanthorrhizol wurden in 3 ml Pyridin mit 2,0 g 3,5-Dinitrobenzoylchlorid vorsichtig unter Eiskühlung versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde unter Feuchtigkeitsausschluß über Nacht bei Raumtemperatur stehengelassen. Anschließend wurde es in 100 ml Eiswasser gegossen und mit konz. Salzsäure vorsichtig tropfenweise angesäuert. Der sich ölig abscheidende Ester wurde mit wäßriger Bicarbonat-Lösung gewaschen und anschließend mit Äther ausgeschüttelt.

Nach Abdampfen des Äthers blieb ein gelb-brauner, öliger Rückstand, der dünnschichtchromatographisch zunächst in einem System für aromatische Carbonsäuren untersucht wurde.
Fließmittel: Benzol/Dioxan/Eisessig (90:25:4)
Laufhöhe: 12,5 cm
Während Xanthorrhizol am Startpunkt liegen blieb, lag bei Rf = 0,62 das überschüssige 3,5-Dinitrobenzoesäurechlorid und bei Rf = 0,91 eine neue Substanz. Zur Kontrolle ließen wir die Substanz auch im System (2) Benzol/Chloroform/Methanol (200:100:3) laufen. Die Laufhöhe betrug 14 cm. Hier blieb am Startpunkt das 3,5-Dinitrobenzoesäurechlorid liegen, während ein mittlerer Fleck (Rf = 0,32) als Xanthorrhizol und eine neue Verbindung bei Rf = 0,61 identifiziert wurden. Der ölige Rückstand der Benzoylierung wurde deshalb von uns zuerst über eine 100 g Kieselgel-Säule mit dem Eluierungsmittel Benzol/Dioxan/Eisessig (90:25:4) vorgereinigt und anschließend über eine 35 g Kieselgelsäule mit dem zweiten System rein erhalten. Die Ausbeute betrug 190 mg reines 3,5-Dinitrobenzoat. Die Verbindung bildete ein fast farbloses Öl, das trotz mehrfacher Versuche nicht kristallin erhalten werden konnte.



Xanthorrhizol-3.5-dinitrobenzoat

	R_f - Werte im System (1)	(2)
3,5-Dinitrobenzoesäurechlorid	0,62	---
Xanthorrhizol	----	0,32
3,5-Dinitrobenzoat von Xanthorrhizol	0,91	0,61

Tabelle 5

Chromatographischer Vergleich der bei der Benzoylierung von Xanthorrhizol auftretenden Substanzen
(1) Benzol/Dioxan/Eisessig (90:25:4)
(2) Benzol/Chloroform/Methanol (200:100:3)

Elementaranalyse:

Berechnet für $C_{21}H_{24}N_2O_6$ (400,43)

C 62,99 % H 6,04 % N 6,99 %

Gefunden: C 64,14 % H 6,08 % N 6,52 %

IR-Spektrum:

3080 m, 2940 m, 2900 m, 1740 s, 1615 s, 1535 s, 1500 w, 1450 m, 1400 w, 1370 w, 1340 s, 1260 s, 1140 s, 1070 w, 920 m, 770 w, 720 s, 730 s cm^{-1}

c = 1,0 mg / 200 KBr

(s = starke, m = mittelstarke, w = schwache Bande)

NMR-Spektrum:

Aufgenommen in $CDCl_3$; Spektrumamplitude 40; Integralamplitude 40; Registrierbereich 1000 bei 60 MHz

Bereich:

1,2 ppm ($-CH_3$); 1,4 - 2,0 ppm (10 Protonen);
2,2 ppm ($-CH_3$); 5,0 ppm (1 Proton);
7,0 - 7,4 ppm (3 Protonen); 9,2 ppm (3 Protonen)

2.3.3. Quantitative Hydrierung von Xanthorrhizol

Zur Identifizierung der Doppelbindung in der Seitenkette wurden in einem Hydriergerät nach Prof. Grewe (Typ MHYD) 27,3 mg Xanthorrhizol in 20 ml Essigsäureäthylester mit 54,6 mg 10 % Palladium/Kohlekatalysator durch Wasserstoff quantitativ hydriert. Der Verlauf der Hydrierung, die insgesamt 12 Minuten beanspruchte, wurde in einem Diagramm festgehalten. Der zu erwartende Verbrauch an Wasserstoff wurde theoretisch nach F. Zymalkowski mit folgender Formel berechnet:

$$V = \frac{n \cdot 22400 \cdot x \cdot p_o \cdot T}{M \cdot p \cdot T_o}$$

wobei

n = Zahl der aufzunehmenden Moläquivalente H_2
x = Gewicht der zu hydrierenden Substanz in mg
p_o = 760 Torr
T = Innentemperatur im Hydriergefäß in ^oKelvin
M = Molekulargewicht der Substanz
p = bei der Hydrierung herrschender Atmosphärendruck in Torr, verringert um den Dampfdruck für Essigsäureäthylester (nach Landolt-Börnstein)
T_o = 273 ^oKelvin

$$V = \frac{1 \cdot 22400 \cdot 0{,}0373 \cdot 760 \cdot 297{,}5}{218{,}34 \cdot 669{,}67 \cdot 273}$$

V = 3,45 ml

Der praktische Verbrauch betrug 3,59 ml
Nach beendeter Hydrierung wurde der Palladium/Kohlekatalysator abfiltriert, das Filter mit Äther nachgewaschen und die vereinigten Filtrate am Vakuumverdampfer eingeengt, bis ein schwach gelbliches Öl zurückblieb. Die Ausbeute betrug 25 mg.

NMR-Spektrum:
Aufgenommen in $CDCl_3$ bei 60 MHz; Spektrumamplitude 50; Integralamplitude 20; Registrierbereich 500

Bereich:

0,9 ppm ($-CH_3$); 1,0 - 1,8 ppm (10 Protonen);
2,2 ppm ($-CH_3$); 6,5 - 7,1 ppm (3 Protonen)

2.3.4. Hydrierung von Xanthorrhizolmethyläther

In dem gleichen Hydriergerät nach Prof. Grewe wurden 35 mg Xanthorrhizolmethyläther in 20 ml Essigsäureäthylester mit 70 mg 10 % Palladium/Kohle-Katalysator vollständig hydriert. Nach Abfiltrieren des Katalysators und Abdampfen des Lösungsmittels wurde ein fast farbloses Öl gewonnen.
Die Ausbeute betrug 33 mg.

NMR-Spektrum:

Aufgenommen in $CDCl_3$ bei 60 MHz; Spektrumamplitude 32; Integralamplitude 32; Registrierbereich 500

Bereich:

1,0 - 2,0 ppm (13 Protonen); 2,2 ppm ($-CH_3$);
3,8 ppm ($-OCH_3$); 6,5 - 7,1 ppm (3 Protonen)

Abbildung des Spektrums siehe Seite 47

2.4. Oxydativer Abbau von Xanthorrhizol und Darstellung der Abbauprodukte von Carvacrol und Thymol

Da sich Phenole mit Seitenketten nur unter Schutz der Hydroxylgruppe mit Salpetersäure oxydieren lassen, wurden zunächst mit Dimethylsulfat von den drei Substanzen die entsprechenden Methyläther hergestellt. Eine Methylierung mit Diazomethan war auch bei Carvacrol und Thymol nicht möglich. Die Darstellung von Xanthorrhizolmethyläther findet sich auf Seite 69.

2.4.1. Methylierung von Carvacrol

In einem Dreihalskolben wurden 20 g Carvacrol in 75 ml Äthanol gelöst und mit 32,8 g Dimethylsulfat (= 24,7 ml) versetzt. Zu dem Gemisch wurden unter Eiskühlung und ständigem Rühren 12,8 g NaOH in 90 ml H_2O aus einem aufgesetzten Tropftrichter im Verlauf von 6 Std. tropfenweise zugegeben.

Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht stehengelassen und anschließend im siedenden Wasserbad eine halbe Stunde lang bis zur völligen Zersetzung des Dimethylsulfates erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde der Rückstand mit Äther ausgeschüttelt, dieser mit Natriumsulfat getrocknet und abdestilliert.
Als Rückstand blieb ein leicht gelbliches Öl, das noch wenig Carvacrol enthielt. Es wurde über eine 100 g Kieselgelsäule mit dem System Benzol/Chloroform/Methanol (200:100:3) gereinigt.
Carvacrolmethyläther wurde als klares, fast farbloses Öl gewonnen. Die Ausbeute betrug 16,3 g.

NMR-Spektrum:

Aufgenommen in $CDCl_3$ bei 60 MHz; Spektrumamplitude 8; Integralamplitude 50; Registrierbereich 500

Bereich:

1,2 - 1,4 ppm ($-CH(CH_3)_2$); 2,2 ppm ($-CH_3$);
2,6 - 3,1 ppm (1 Proton); 6,6 - 7,0 ppm (3 Protonen)

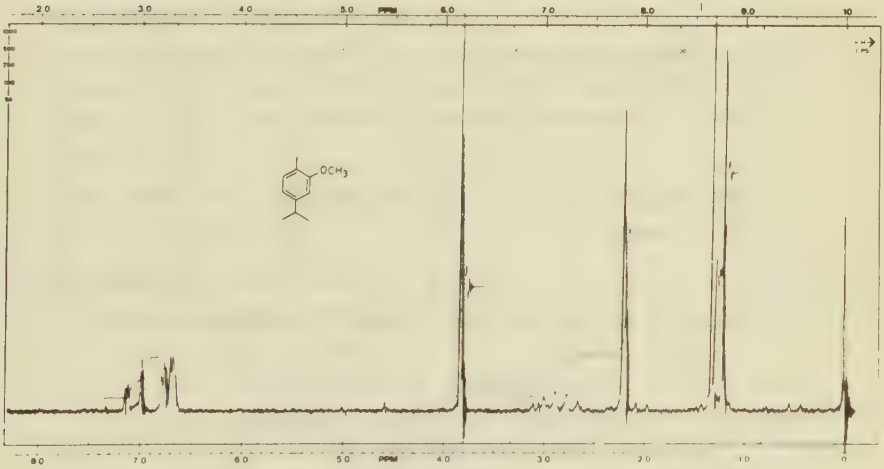


Abb. 30

NMR-Spektrum von Carvacrolmethyläther, aufgenommen in $CDCl_3$ bei 60 MHz

2.4.2. Methylierung von Thymol

20 g Thymol wurden nach dem bei Carvacrol beschriebenen Verfahren mit 32,8 g Dimethylsulfat und mit 12,8 g NaOH in 90 ml H_2O tropfenweise versetzt und über Nacht stehengelassen. Nach dem Ausschütteln des Reaktionsgemisches mit Äther wurde über eine Kieselgelsäule gereinigt. Thymol wurde als klares, schwach gelbliches Öl dargestellt. Die Ausbeute betrug 18,7 g.

NMR-Spektrum:

Aufgenommen in $CDCl_3$ bei 60 MHz; Spektrumamplitude 5; Integralamplitude 50; Registrierbereich 500

Bereich:

1,1 - 1,3 ppm ($-CH(CH_3)_2$); 2,3 ppm ($-CH_3$);
3,0 - 3,5 ppm (1 Proton); 6,6 - 7,1 ppm (1 Proton)

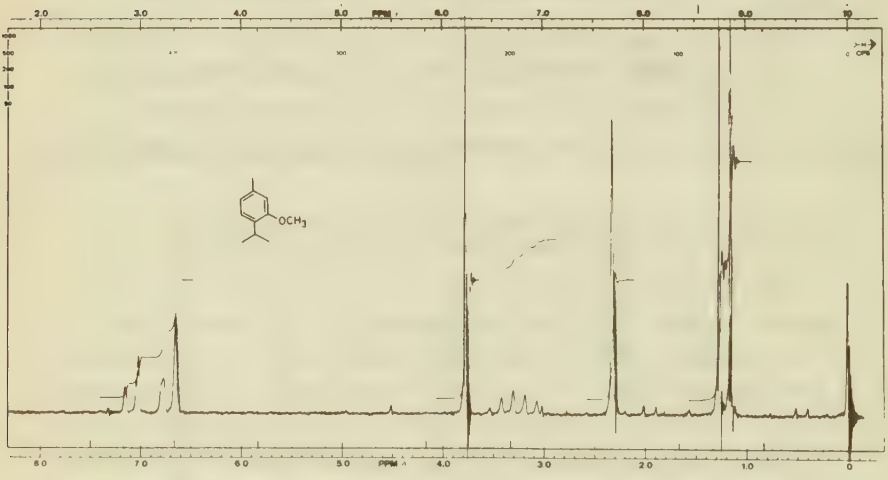


Abb. 31

NMR-Spektrum von Thymolmethyläther, aufgenommen in $CDCl_3$ bei 60 MHz

2.4.3. Oxydation von Carvacrolmethyläther mit verdünnter Salpetersäure

In einem 500 ml Rundkolben mit aufgesetztem Rückflußkühler wurden vorsichtig 270 ml H_2O und 75 ml konz. Salpetersäure (65-68 %) unter ständigem Rühren gemischt. Dazu wurden 12,5 g Carvacrolmethyläther gegeben und das Reaktionsgemisch zunächst 2 Std. lang unter Rückfluß gekocht. Nach dem Abkühlen und längerem Stehenlassen bei Raumtemperatur bildeten sich feine Nadeln. Diese wurden vorsichtig abfiltriert. Das Filtrat wurde etwas mit Wasser verdünnt und mehrfach mit Äther ausgeschüttelt. Der Äther wurde getrocknet und abdestilliert. Der stark salpetersaure Rückstand wurde erneut mit wenig Wasser verdünnt und kurz mit Aktivkohle gekocht. Im Filtrat konnten nach einigen Tagen weitere Nadeln gefunden werden. Diese wurden mit den zuerst auskristallisierten Nadeln vereinigt und durch wiederholtes Umkristallisieren aus siedendem H_2O als weiße, feine Nadeln rein erhalten. Der Schmelzpunkt betrug 156°. Die Substanz war unlöslich in kaltem H_2O, leicht löslich in Methanol und Äther.
Die Ausbeute betrug 620 mg.
Die bisher auf diesem Wege noch nicht hergestellte Verbindung wurde durch Vergleich mit dem Literatur-Schmelzpunkt (156°) als 3-Methoxy-4-methylbenzoesäure identifiziert.

Durch NMR- und IR-Spektrum konnte die Identität bestätigt werden.

IR-Spektrum:

2940 m, 2900 m, 1680 s, 1600 w, 1570 m, 1500 m,
1450 s, 1415 s, 1300 s, 1270 w, 1240 m, 1180 w,
1130 w, 1105 m, 1035 s, 990 w, 870 m, 760 s cm^{-1}

c = 1,0 mg / 200 mg KBr

(s = starke, m = mittelstarke, w = schwache Bande)

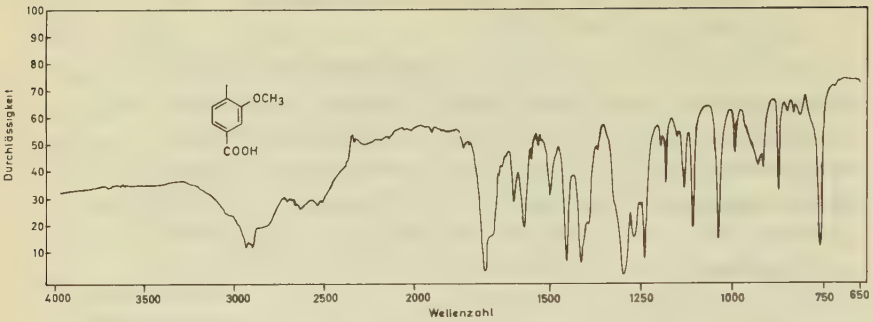


Abb. 32

IR-Spektrum von 3-Methoxy-4-Methylbenzoesäure in KBr

NMR-Spektrum:

Aufgenommen in $CDCl_3$ bei 60 MHz; Spektrumamplitude 40; Integralamplitude 40; Registrierbereich 1000

Bereich:

2,4 ppm ($-CH_3$); 3,9 ppm ($-OCH_3$);
7,0 - 8,0 ppm (3 Protonen); 11,6 ppm (-OH)

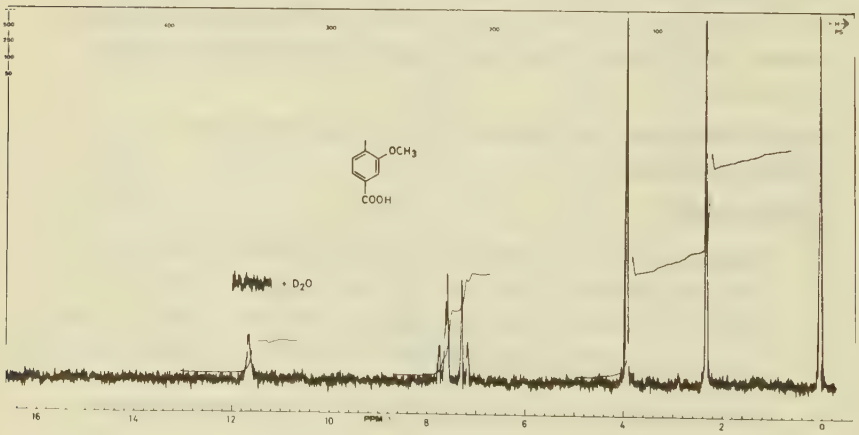


Abb. 33

NMR-Spektrum von 3-Methoxy-4-Methylbenzoesäure, aufgenommen in $CDCl_3$ bei 60 MHz, Registrierbereich 1000

Anschließend wurden 12,5 g Carvacrolmethyläther unter den gleichen Reaktionsbedingungen 8 Std. lang mit verd. Salpetersäure unter Rückfluß gekocht. Nach Abkühlung wurde über Nacht stehengelassen. Dabei bildeten sich feine, prismatische Kristalle. Durch Ausschütteln mit Äther und Umkristallisation aus siedenden H_2O bildeten sich helle Prismen mit dem Schmelzpunkt von 276°. Die Verbindung löste sich kaum in kaltem H_2O, Chloroform und Benzol, leicht dagegen in Methanol. Sie wurde identifiziert als Methoxyterephthalsäure durch Vergleich mit dem Schmelzpunkt der Literatur (276°). Diese Verbindung war bereits von Paterno und Canzoneri durch längeres Kochen von Carvacrolmethyläther mit verdünnter Salpetersäure dargestellt worden (Paterno, 1879).
Die Ausbeute betrug 830 mg.

IR-Spektrum:

2960 w, 1680 s, 1600 w, 1560 m, 1480 m, 1450 w, 1400 m, 1290 s, 1230 s, 1080 w, 1030 m, 870 w, 780 w, 755 m cm^{-1}

c = 1,4 mg / 200 mg KBr

(s = starke, m = mittelstarke, w = schwache Bande)

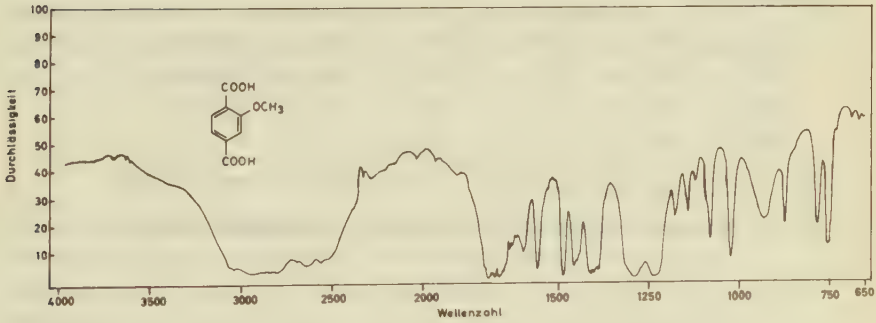


Abb. 34
IR-Spektrum von Methoxyterephthalsäure in KBr

2.4.4. Oxydation von Thymolmethyläther mit verdünnter Salpetersäure

Je 12,5 g Thymolmethyläther wurden nach dem bei der Oxydation von Carvacrolmethyläther beschriebenen Verfahren mit verdünnter Salpetersäure je 2 Std. und 8 Std. lang unter Rückfluß gekocht. Nach 2 Std. bildeten sich im ersten Ansatz in sehr geringer Menge Kristalle. Wir konnten dünnschichtchromatographisch (System: Benzol/Dioxan/Eisessig (90:25:4)) feststellen, daß sie identisch waren mit denen, die aus dem 8 Stunden lang gekochten Ansatz in größerer Menge ausgefallen waren. Der erste Ansatz wurde deshalb weitere 6 Stunden lang erhitzt und beide Ansätze vereinigt. Nach dem Ausschütteln mit Äther und Auflösung des Rückstandes in siedendem Methanol erhielten wir feine, fast farblose Nadeln mit dem Schmelzpunkt 173°. Die Substanz löste sich leicht in Methanol, Äther und Benzol; sie war unlöslich in kaltem H_2O. Sie wurde identifiziert als 5-Nitro-2-Methoxy-4-Methylbenzoesäure durch Vergleich mit dem Literaturschmelzpunkt (173-175°). Auch diese Verbindung war von Paterno und Canzoneri durch Kochen von Thymolmethyläther mit verdünnter Salpetersäure dargestellt worden (Paterno, 1879). Die Ausbeute betrug 1,12 g.

IR-Spektrum:

2960 m, 2840 w, 1700 s, 1680 s, 1610 s, 1550 m,
1510 w, 1480 m, 1475 w, 1430 w, 1320 w, 1340 s,
1280 s, 1200 w, 1170 w, 1050 s, 1030 w, 980 m,
930 m, 860 s, 790 m, 750 s cm^{-1}

c = 1,4 mg / 200 mg KBr

(s = starke, m = mittelstarke, w = schwache Bande)

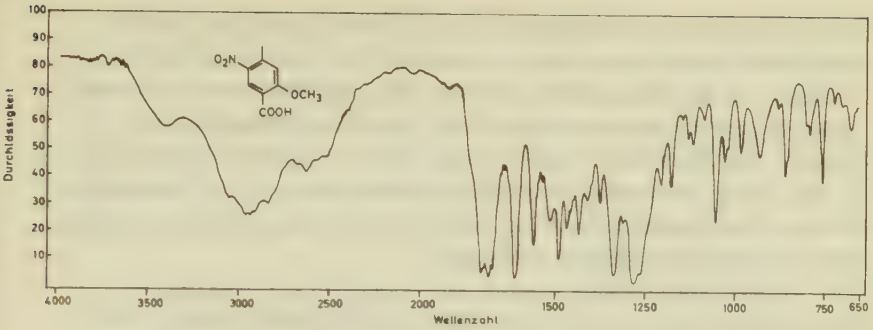


Abb. 35

IR-Spektrum von 5-Nitro-2-Methoxy-4-Methylbenzoesäure in KBr

2.4.5. Chromatographie der Vergleichssubstanzen

Die aus Carvacrol- und Thymolmethyläther durch Oxydation dargestellten Carbonsäuren konnten in dem System Benzol/ Dioxan/Eisessig (90:25:4) (nach Petrowitz, 1962) auf Kieselgelplatten unterschieden werden. Die Rf-Werte befinden sich auf Seite 51. Mit dem gleichen System gelang es, die Rückstände der Ätherausschüttelung der salpetersauren Reaktionsgemische beider Vergleichssubstanzen über Kieselgel-Säulen aufzutrennen und auf diesem Weg die Carbonsäuren rein darzustellen. Dieses Verfahren wendeten wir bei Xanthorrhizol an.

2.4.6. Oxydation von Xanthorrhizolmethyläther mit verdünnter Salpetersäure

In einem 50 ml Rundkolben wurden nach dem gleichen Verfahren, das bei Carvacrol- und Thymolmethyläther angewendet worden war, 1 g Xanthorrhizolmethyläther in einer Mischung von 7,5 ml konz. Salpetersäure und 27 ml H_2O jeweils 2 Std. und 8 Std. lang unter Rückfluß gekocht. Die Ansätze wurden mehrere Tage bei Raumtemperatur aufbewahrt. Nachdem auf diese Weise keine Kristallisation hatte festgestellt werden können, wurden die Ansätze

mit etwas Wasser verdünnt und mit Äther mehrfach ausgeschüttelt. Der Äther wurde abdestilliert und der dunkelbraune, ölige Rückstand mit dem oben beschriebenen System dünnschichtchromatographisch mit den Carbonsäuren aus Thymol und Carvacrol verglichen. Dabei konnten wir in dem 2 Std. lang erhitzten Ansatz die Anwesenheit von 3-Methoxy-4-Methylbenzoesäure und in dem 8 Std. lang erhitzten Ansatz Methoxyterephthalsäure erkennen.
Die öligen Rückstände wurden auf zwei 50 g Kieselgel-Säulen gebracht und mit dem gleichen System eluiert. Die Fraktionen wurden in Mengen von 10 ml aufgefangen und geprüft. Nach Abdampfen des Lösungsmittels konnte durch Zugabe von getrocknetem Äther auf den Rückstand des 8 Stunden lang erhitzten Ansatzes Methoxyterephthalsäure kristallin in einer Ausbeute von 65 mg gewonnen werden. Dagegen konnte die 3-Methoxy-4-Methylbenzoesäure in der betreffenden Fraktion nur noch dünnschichtchromatographisch nachgewiesen werden. Die Methoxyterephthalsäure stimmte mit dem Schmelzpunkt 278° mit dem der aus Carvacrol dargestellten Verbindung überein. Auch die IR-Spektren zeigten Übereinstimmung.

IR-Spektrum:

2950 s, 1680 s, 1600 w, 1560 s, 1490 s, 1460 m,
1400 s, 1290 s, 1230 s, 1080 m, 1030 m, 880 m,
780 m, 750 s, cm^{-1}

c = 1,5 mg / 200 mg KBr

(s = starke, m = mittelstarke, w = schwache Bande)

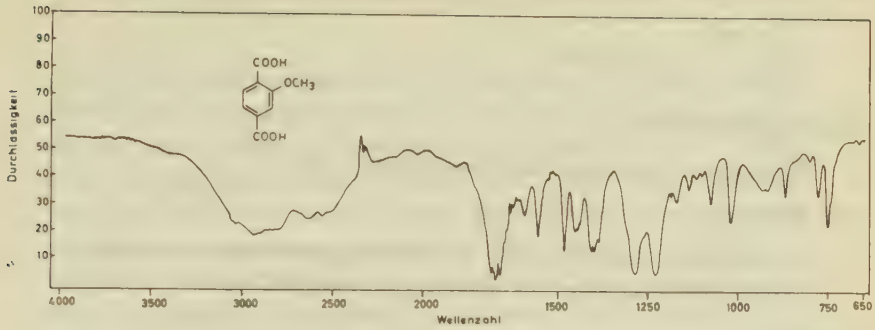


Abb. 36

IR-Spektrum von Methoxyterephthalsäure in KBr

2.5. Cyclisierung von Xanthorrhizol

In einem Rundkolben wurden unter ständigem Rühren 0,5 g Xanthorrhizol mit 2 g p-Toluolsulfonsäure in 50 ml wasserfreiem Benzol 2 Std. lang unter Rückfluß gekocht. Die Lösung färbte sich bei Erreichen des Siedepunktes dunkelviolett. Nach dem Abkühlen wurde der Rückstand von nicht umgesetzter p-Toluolsulfonsäure abfiltriert und das Filtrat mehrfach mit je 50 ml H_2O ausgeschüttelt, bis die wäßrige Phase keine saure Reaktion mehr zeigte. Das Benzol wurde am Vakuumverdampfer abgezogen und der ölige Rückstand dünnschichtchromatographisch im System n-Hexan/Benzol/Methanol (90:10:1) untersucht. Oberhalb von Xanthorrhizol wiesen wir eine neu entstandene Substanz mit dem Rf-Wert = 0,62 nach, die sich nach Ansprühen mit Gibbs Reagenz bereits ohne Bedampfung mit konz. Ammoniak violett anfärbte.

Der ölige Rückstand wurde auf eine 25 g Kieselgelsäule gegeben und mit dem gleichen System eluiert. Wir erhielten nach Einengung der Fraktionen 9-11 (je 5 ml) ein farbloses Öl. Die Ausbeute an reinem, cyclisiertem Xanthorrhizol betrug 210 mg.

Die Messung im Polarimeter ergab die spezifische Drehung

$$[\alpha]_D^{20^\circ} \quad (-)\ 84{,}5^\circ$$

Molekulargewicht:

Bestimmung aus dem Massenspektrum: 218

NMR-Spektrum:

Aufgenommen in $CDCl_3$ bei 60 MHz; Spektrumamplitude 32; Integralamplitude 50; Registrierbereich 500

Bereich:

0,7 - 1,5 ppm (14 Protonen); 1,6 - 2,1 ppm (1 Proton); 2,2 ppm ($-CH_3$); 2,9 ppm (1 Proton); 4,5 ppm (OH); 6,6 - 7,1 ppm (2 Protonen, J_{AB}= 8 Hz)

Massenspektrum:

Bruchstücke: m/e 218, m/e 203, m/e 175, m/e 160, m/e 147, m/e 145, m/e 135, m/e 128, m/e 121, m/e 43

Metastabile Peaks: m^* = 146,0, m^* = 140,5, m^* = 131,5, m^* = 123,5, m^* = 113,5, m^* = 102,5

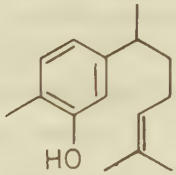
V. Diskussion

Wie in der Einleitung bereits festgestellt wurde, sollte neben der Strukturaufklärung einer von uns im ätherischen Öl von Temoe Lawak entdeckten neuen Verbindung die Frage nach dem gallewirksamen Prinzip der Droge erneut geprüft werden. Die bisher als wirksam angesehenen Inhaltsstoffe p-Tolylmethylcarbinol und Cycloisoprenmyrcen stellen offenbar keine genuinen Ölbestandteile dar, sondern sind erst bei höheren Temperaturen während der Aufarbeitung entstehende Artefakte (Gunster, 1943).
Der negative Verlauf eines Tests auf choleretische Wirkung von Xanthorrhizol ließ die Frage der galletreibenden Wirkung jedoch nach wie vor offen.
Dagegen haben die Ergebnisse der chromatographischen Untersuchung die Möglichkeit einer eindeutigeren Unterscheidung der Temoe-Lawak-Droge von Curcuma domestica Val. erbracht. Es zeigte sich, daß das von uns in Curcuma xanthorrhiza, nicht jedoch in Curcuma domestica nachgewiesene phenolische Sesquiterpen Xanthorrhizol, sich durch Besprühen mit Gibbs Reagenz auch aus einer Vielzahl von Begleitstoffen leicht identifizieren läßt. Der Nachweis einer Verwechslung beider Drogen ist bei der morphologisch-anatomischen Prüfung, insbesondere bei der zerkleinerten oder gepulverten Droge nur dann eindeutig möglich, wenn beide Drogen bei der Bearbeitung verschieden behandelt wurden.
Bei Curcuma domestica Val. tritt durch Überbrühen oder Kochen der Wurzelstöcke vor ihrer Trocknung eine Verkleisterung der Stärkekörner zu großen, gelben Ballen auf, so daß ihre ursprüngliche, charakteristische Form nicht mehr zu erkennen ist.
Bei Curcuma xanthorrhiza Roxb. dagegen werden die Rhizome vor der Trocknung nur geschält und in dünne Scheiben zerschnitten, so daß zwar die äußeren Schichten der Epidermis fehlen, aber die Stärkekörner nicht verkleistert sind.

Da diese beiden Behandlungsweisen aber nicht immer eingehalten werden und Verwechslungen bereits bei den Drogenerzeugern vorkommen (Gunster, 1943), hat man versucht, neben der mikroskopischen Methode charakteristische Farbreaktionen bei der Untersuchung anzuwenden.
Sowohl das ätherische Öl wie auch das Drogenpulver lassen sich mit konzentrierter Schwefelsäure gut unterscheiden bei Verwendung von Essigsäureanhydrid.
Diese und weitere Reaktionen mit Reagentien lassen sich einer Tabelle nach Jentzsch entnehmen (Jentzsch, 1954).
Diese auf Farbreaktionen des Drogenpulvers beruhenden Nachweismethoden wurden durch Einführung der Papierchromatographie und die dadurch ermöglichte eindeutigere Identifizierung mehrerer Inhaltsstoffe verbessert (Srinavasan, 1953; Jentzsch, 1959). Jentzsch konnte 1959 nachweisen, daß die von ihm erarbeiteten Farbreaktionen durch das nur in der Gelbwurz vorkommende p,p'-Dihydroxydicinnamoylmethan verursacht werden.
Winkler und Lunau (1959) veröffentlichten eine Methode zur Unterscheidung beider Drogen, die auf dem nur im fraktionierten Öl von Temoe Lawak nachweisbaren p-Tolylmethylcarbinol beruht.
Die von Jentzsch 1959 zur Identifizierung herangezogenen Hauptbestandteile des Gemisches gelber Farbstoffe in beiden Drogen, die Diferuloylmethanderivate, wurden durch Übertragung der Methode von der Papier- zur Dünnschichtchromatographie durch Luckner (1967) zu einem Verfahren weiterentwickelt, das durch kürzere Laufzeiten und größere Trennschärfe bei Verwendung aggressiver Reagentien noch genauere Prüfungsergebnisse erreicht.
Das von uns angegebene Verfahren stellt zusätzlich zu den hier aufgeführten Methoden die Möglichkeit einer systematischen Abgrenzung der Temoe-Lawak-Pflanze neben anderen kultigen entstandenen Arten dar, die, wie das Beispiel der Gelbwurz-Droge zeigt, in ihrer Wirkung stark voneinander abweichen können.

VI. Zusammenfassung

Aus dem ätherischen Öl von Curcuma xanthorrhiza Roxb. wurde von uns eine bisher nicht beschriebene Verbindung in einer Menge von etwa 20 % isoliert. Wir gaben der Verbindung den Namen Xanthorrhizol.
Die Substanz wurde sowohl aus dem ätherischen Öl nach Wasserdampf-Destillation wie auch direkt durch Säulenchromatographie des Methylenchlorid-Extraktes der Droge isoliert. Damit war die Möglichkeit der Darstellung eines Artefaktes ausgeschlossen.
Die Struktur der Verbindung wurde mit den Methoden der UV-, NMR-, IR- und Massenspektroskopie sowie durch chemische Methoden aufgeklärt.
Xanthorrhizol erwies sich als ein monozyklisches, phenolisches Sesquiterpen vom Bisabolan-Typ:



Die Verbindung zeigte im pharmakologischen Test keine choleretische Wirkung.
Durch dünnschichtchromatographische Untersuchungen wurden die beiden am häufigsten verwendeten Curcuma-Arten - Curcuma xanthorrhiza Roxb. und Curcuma domestica Val. - auf das Vorhandensein von Xanthorrhizol geprüft. Es wurde festgestellt, daß die Substanz nur in Curcuma xanthorrhiza Roxb. vorkommt.
Die dünnschichtchromatographische Nachweismöglichkeit von Xanthorrhizol durch Ansprühen der DC-Platte mit Gibbs Reagenz gestattete neben den bereits von anderen Autoren vorgeschlagenen Unterscheidungsverfahren eine eindeutige Identifizierung von Temoe-Lawak-Droge neben Curcuma domestica Val.

VII. Literaturverzeichnis

Agranoff, B.W., Eggerer, H., Henning, U. und Lynen, F.: J. Amer. Chem. Soc. 81, 1254 (1959)

Bamann, E. und Ullmann, E.: Chemische Untersuchungen von Arzneigemischen, Arzneispezialitäten und Giftstoffen, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart 1961, p. 121

Berger, F.: Handbuch der Drogenkunde, Wilhelm Maurich Verlag Wien 1960, p. 154 f.

Bontius: Opuscula Selecta Neerlandorum de Arte Medica X zit. Arch. Pharmaz. 277, 91 (1939)

Brieskorn, C. H. und Dömling, H.J.: Arch. Pharmaz. 302, 641 (1969)

Burger, A.: Essent. Oil Res. 12, 801 (1958)

Claus, E.P.: Pharmacognosy, Verlag Lea u. Febiger, Philadelphia 1965, p. 257

de Clerq: Niew Plantkunding Woordenbolk vor Ned. Ind.

Davidis, G. und Zaajer, J.: Econ. Weekblad 7, 62

Dieterle, H. und Kaiser, Ph.: Arch. Pharmaz. 270, 413 (1932) Arch. Pharmaz. 271, 337 (1933)

Engler, A.: in Engler-Prantl: Die natürlichen Pflanzenfamilien, Verlag von W. Engelmann, Leipzig 1889, Teil II

Franquelo, E.: Münch. Med. Wochenschrift 80, 524 (1933)

Garcia ab Orta: zit. nach Potter van Loon, Dissert.1933 Amsterdam, Arch. Pharmaz. 277, 91 (1939)

Gildemeister, E. und Hoffmann, F.: Die ätherischen Öle, Akademie-Verlag Berlin 1956,Bd. IV,p.472

Grabe, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Pathol. Pharmakol. 176, 673 (1934)

van Griffen, H.J.: Pharm. Weekblad 78, 925 (1941)

Guenther, E.: The Essential Oils 1952, Bd. V, p. 120 f.

Gunster, P.F.: Dissert. Groningen 1943, ref. Schweiz. Ap. Ztg. 89, 277 (1951)

Guttenberg, A.: Klinische Wochenschrift 5, 1998 (1926) Zeitschr. f. exp. Med. 54, 642 (1929)

Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis, Bd. I, neu bearbeitet und herausgegeben von G. Frerichs, G. Arend und H. Zörnig, Springer-Verlag Berlin 1949

Hayashi, S., Sato, H., Hayashi, N., Okuda, T. und Matsuura, T.: J. of Science of the Hiroshima University 31, 217-231 (1967)

Hegnauer, R.: Chemotaxonomie der Pflanzen, Birkhäuser-Verlag,Basel 1963, Bd. 2, p. 451 f.

Hendrickson, J.B.: Tetrahedron 7, 82 (1959)

Heyne, K.: De nuttige planten van Need. Ind., zit. nach Berger

Holtum, R.E.: Indian J. Genetics and Plant Breed. 11, 105 (1951)

Isaac, O.: Pharmaz. Ztg. 104, 860 (1959)

Jackson, C.L. und Menke, A.E.: Amer. chem. J. 4, 368 (1882)

Jentzsch, K.: Scient. Pharm. 22, 31 (1954)

Jentzsch, K., Gonda, T. und Höller, H.: Pharmac. Acta Helvet. 34, 181 (1959)

Jentzsch, K. und Sackl, H.: Scient. Pharm. 22, 109 (1954)

Kalk, H. und Nissen, K.: Dtsch. Med. Wochenschrift 57, 1613 (1931)
Dtsch. Med. Wochenschrift 58,1718 (1932)

Kelkar, N.C. und Rao, B.S.: J. Indian. Inst. Sci. 17 A, 7 (1934) ref. Chem. Zbl. 1934, II, p. 151

Kemkes, B.: Med. Klin. 38, 23 (1943)

Koch, R.: Münch. Med. Wochenschrift 74, 972 (1927)

Kohlstaedt, E.: Fortschr. d. Ther. 19, 343 (1943)

Leeds, A.R.: Chem. Ber. 14, 484 (1881)

Loesener, Th. in Engler und Prantl: Die natürlichen Pflanzenfamilien, Verlag von W. Engelmann, Leipzig 1930, Bd. 15a,p.541 f.

Luckner, M., Bessler, O. und Luckner, R.: Pharmazie 7, 371 (1967)

Meyer, Th. und Koolhaas, D.C.: Arch. Pharmaz. 277, 91 (1939)

Neubauer, H.F.: Faculty of Bandung, Java, zit. Scient. Pharm. 22, 31 (1954)

Paterno und Canzoneri: Gazetta Chim. Ital. 9, 456 (1879) ref. Jahresber. f. Fortschr. d. Chemie 1879, 519; Gazette Chim. Ital. 10, 516 (1880) ref. Jahresber. f. Fortschr. d. Chemie 1880, 663

Petrowitz, H.J. und Pastuska, J.: J. Chromatogr. 7, 128 (1926)

Peyer, W. und Hünerbein, H.: Apoth. Ztg. 8, 112 (1932)

Pfau, A.S.: Helv. Chim. Acta 15, 1481 (1932)

Reipe, H.G., Clar, G., Pfau, A. und Plattner, P.: Helv. Chim. Acta 17, 372 (1934)

Robbers, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. exper. Pathol. Pharmakol. 181, 328 (1936)

Rowe, J.W. und Toda, J.K.: Chemistry and Industry 1969,922

Ruzicka, L., Eschenmoser, A. und Heusser, H.: Experentia 9, 357 (1953)

Ruzicka, L., Jeger, O. und Arigoni, D.: Helv. Chim. Acta 38, 1890 (1955)

Schraufstädter, E. und Bernt, H.: Nature (London) 164, 457 (1949)

Schreiber, H. und Hermann, F.: Z. klin. Med. 101, 529 (1925)

Srinavasan, K.R.: J. Pharm. Pharmacol. 5, 448 (1953)

Steinegger, E. und Hänsel, R.: Lehrbuch der Pharmakognosie, Springer-Verlag Berlin 1968, p. 19 und 403 f.

Stirnadel, M.: Therap. d. Gegenwart 75, 73 (1934)

Tabernaemontus, J.Th.: Kräuterbuch 1625, Neudruck von Konrad Kölbl-Verlag München 1963, p.1305

Thoms, H.: Handbuch der praktischen und wissenschaftlichen Pharmazie Berlin 1929, Bd. 2

Tschirch, A.: Handbuch der Pharmakognosie, Leipzig 1925 Bd. III, Abt. II

Valeton, Th.: Bull. Jard. Botan. Buitenzorg. 27, 1 (1918)

Wiggers, A.: Grundriß der Pharmakognosie, Vandenhoeck und Ruprecht-Verlag Göttingen 1847, p.93 f.

Winkler, W. und Lunau, E.: Pharm. Ztg. 104, 1407 (1959)

Zörnig, H.: Arzneidrogen, Leipzig 1911, Teil III

van Zijp, C.: Rec. trac. bot. Neerl. XIV, 3-4, 127 (1917)

Zymalkowski, F.: Katalytische Hydrierungen, Ferdinand Enke-Verlag Stuttgart 1965, p. 16

VIII. Lebenslauf

Am 16. August 1939 wurde ich, Lutz Kochendoerfer, Sohn des Apothekers Heinrich Kochendoerfer und seiner Ehefrau Ilse geb. Schneider, in Berlin geboren.

Im Herbst 1945 wurde ich in die Grundschule in Berlin-Köpenick eingeschult, die ich bis zum Herbst 1949 besuchte. Im Herbst 1949 kam ich an das Evangelische Gymnasium in West-Berlin, das ich bis zum Abitur im März 1958 besuchte. Vom März 1958 bis zum April 1960 studierte ich an der Freien Universität Berlin Rechtswissenschaften. Im April 1960 begann ich meine pharmazeutische Ausbildung. Die zweijährige Praktikantenzeit in der Minerva-Apotheke, Berlin-Charlottenburg, schloß ich im März 1962 mit der pharmazeutischen Vorprüfung ab.

Zum Wintersemester 1963 erhielt ich die Zulassung zum Studium der Pharmazie an der Technischen Universität Berlin, das ich nach zwei Semestern an der Freien Universität Berlin fortsetzte. Im Frühjahr 1967 bestand ich die Pharmazeutische Prüfung.

Seit dem Frühjahr 1967 bin ich mit der vorliegenden Arbeit unter der Leitung von Herrn Professor Dr.R.Hänsel am Institut für Pharmakognosie der Freien Universität Berlin beschäftigt.

Am gleichen Institut bin ich seit April 1968 als wissenschaftlicher Tutor tätig.

Die Approbation als Apotheker erhielt ich im April 1968.

Ich bin verheiratet und habe ein Kind.

Druck: Dissertationsdruckstelle, 1 Berlin 33